Quantitative enzymatische Histophotometrie alterierter Nieren nach Ureterobstruktion, Ischämie und Ligatur der Nierenvene mit einem computer-assistierten Bildanalysator

Wolfgang Rauh

Diss. Frankfurt am Main
1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523705_0045

Aus dem Zentrum der Chirurgie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Abteilung für Urologie
(Leiter: Prof. Dr. W. Weber)

Quantitative enzymatische Histophotometrie alterierter Nieren nach Ureterobstruktion, Ischämie und Ligatur der Nierenvene mit einem Computer-assistierten Bildanalysator

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

dem Fachbereich Humanmedizin vorgelegt

von Wolfgang R a u h aus Erlangen

Frankfurt am Main, 1983

Dekan: Prof. Dr. H.J. Müller

Referent: Prof. Dr. D. Jonas

Korreferent: Prof. Dr. W. Mondorf

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Dezember 1983

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. G. Heinert für die Themenstellung und die mir jederzeit sowohl im praktischen als auch im theoretischen Teil der Arbeit gewährte Unterstützung.

Ebenso danke ich Frau R. Schröder für die technische Hilfe bei den Laborarbeiten.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn W. Remelius (Firma Zeiss, Oberkochem - Frankfurt am Main) für seine Kooperation am Bildanalysator "Micro-Videomat 2".

Für die wissenschaftliche Zusammenarbeit sei Herrn Dr. Muschaweck der Firma Hoechst AG, Abteilung Pharmakologie, Pharma-Forschung, gedankt.

Herrn Prof. Dr. med. D. Jonas danke ich für die wissenschaftliche Beratung.

Meinen Eltern

Inhalt

		Seiten
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methode	3
2.1	Versuchskollektiv	3
2.2	Gruppeneinteilung	3
2.3	Narkoseverfahren und Operationsmethode	4
2.4	Färbemethode der alkalischen Phosphatase (AP)	5
2.5	Färbemethode der Alanin-Aminopeptidase (AAP)	7
2.6	Histophotometrie enzymatisch angefärbter Nierengewebe mit einem computer-gestützten Bildanalysator "Micro-Videomat 2", Zeiss	9
2.7	Statistische Methoden	12
3.	Ergebnisse	13 - 47
4.	Diskussion	48 - 54
5.	Zusammenfassung	55
6.	Literatur	56 - 61
7.	Lebenslauf	62

1. Einleitung

Die Niere und darin besonders das Tubulussystem stellen einen Regulator der Körperhomöostase dar. Besonders die proximalen Tubuli enthalten hohe Konzentrationen verschiedener Markerenzyme. Die Hauptaktivitäten der Tubulusepithelzellen der Niere bestehen vorwiegend in Reabsorption und Sekretion. Hohe Aktivitäten von Markerenzymen des proximalen Tubulus sind an diesen Stoffwechselvorgängen beteiligt.

Die Kenntnis der Markerenzyme in den Tubulusepithelzellen ermöglicht dem Untersucher, zusätzliche Informationen über den morphologischen und enzymhistochemischen Status des Nierentubulus zu erhalten (13). Deshalb analysierten wir als Indikatorenzyme die alkalische Phosphatase (AP) und die Alanin-Aminopeptidase (AAP), da sie in hohen Konzentrationen besonders in Human- und Rattennieren vorkommen. Es haben bereits frühere Untersuchungen gezeigt, daß die AAP und die AP als Markerenzyme einen histochemischen Parameter des proximalen Tubulus der Niere darstellen können (1, 14). Andere Autoren berichten (19, 31, 42), daß sowohl die AP als auch die AAP verursacht durch verschiedene Schädigungen (ischämisch, inflammatorisch, in hydronephrotisch alterierten Nieren, toxisch, medikamentenbedingt etc.) des proximalen Tubulus aus ihrem Zellverband herausgelöst und in ihrer Aktivität im Nierenrindengewebe vermindert gemessen wurden. Bei noch guter diuretischer Funktion der Niere können auch durch Schädigungen der Nierenrinde vermehrt Enzyme im Urin ausgeschieden werden. So kommt es zu meßbaren Enzymurien, z.B. bei akuten und chronischen interstitiellen Nephropathien, Abstoßungskrisen nach Nierentransplantationen, akuter tubulärer Nekrose, bei Nierentumoren etc. (19, 31, 42).

Ziel der hier vorgelegten Untersuchungen war es nun, im Nierengewebe selbst histophotometrisch morphologische und enzymatische Alterationen experimentell zu analysieren.
Dabei sollten klinisch relevante Krankheitsbilder am Tierversuch dargestellt und untersucht werden. Es erfolgte eine unilaterale Ureterobstruktion von 10 und 21 Tagen. Damit sollten klinisch häufig vorkommende hydronephrotische Nierenalterationen analysiert werden, wie sie auftreten bei Nephrolithiasis, Prostatahyperplasie, neurogener Blasenentleerungsstörung oder Strikturen, seien sie entzündlicher, neoplastischer oder traumatischer Ursache.

Weiter sollten untersucht werden Ischämien, wie sie bei Nierenstielabklemmungen in der Steinchirurgie und der operativen Therapie von Tumoren bei Solitärnieren erfolgen können oder auch während einer Kreislaufdepression, z.B. im Schock. Eine normotherme Ischämiedauer von 2 und 24 Stunden sowie eine Ischämie von 2 Stunden und 14-tägiger Wiederdurchblutung wurde gewählt, da sie klinisch vorkommende Schädigungen von Nieren repräsentieren können.

Außerdem wurden Abflußstörungen der Vena renalis, wie sie bei Venenthrombose oder Venenkompression vorkommen können, untersucht.

Anhand von Enzymkonzentrationsänderungen der nierenspezifischen Markerenzyme AP und AAP sollten die metabolischen Schädigungen histophotometrisch analysiert werden.

Da angenommen werden konnte, daß das Ausmaß der Nierenschädigung, hervorgerufen durch Ischämie, Ureterobstruktion und venöse Abflußstörung, in Relation steht mit Veränderungen der tubulären Enzymkonzentration, wurden nun Gewebsschnitte nach den oben definierten Alterationen untersucht auf die Aktivität dieser Enzyme.

UNIV. LIBRARY

Die Enzymkonzentrationen wurden mit dem computer-gestützten Bildanalysator "Micro-Videomat 2" bestimmt. Dieses Gerät stellt ein entscheidendes Hilfsmittel dar, um die Enzymkonzentration quantitativ histophotometrisch dokumentieren und statistisch auswerten zu können. Darin besteht auch der Vorteil dieser Methode im Vergleich zu den konventionellen subjektiven Beurteilungen. Subjektive Auswertungen können durch objektive reproduzierbare Messungen ergänzt werden. In kürzester Zeit ist es mit diesem elektronisch arbeitenden Gerät möglich, eine Auswertung vieler repräsentativer Meßfelder zu erhalten und einen Nierengewebsschnitt photometrisch "abzuscannen". Dieses Verfahren kann daher für die Diagnostik und auch für die Prognose von Erkrankungen der Niere wertvolle Hinweise geben.

2. Material und Methode

2.1 Versuchskollektiv

Ausgewertet wurden 332 Nieren männlicher Wistar-Ratten. Die Tiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten, mit 14 Stunden Licht im Wechsel mit 10 Stunden Dunkelheit. Die Luftfeuchtigkeit betrug 50 - 60 %. Die Nahrungs- und Wasserversorgung war nicht eingeschränkt. Bei Beginn eines jeden Versuches betrug das Körpergewicht der untersuchten Tiere 180 - 250 g. Eine Zuteilung zu verschiedenen Versuchsgruppen erfolgte randomisiert.

2.2 Gruppeneinteilung

Die den Versuchen zugrundeliegende Gruppeneinteilung bestand in:

(1) unilaterale Ureterobstruktion (10 Tage) (n = 12)

(2) unilaterale Ureterobstruktion (21 Tage) (n = 6)

(3) 2-stündige unilaterale normotherme Ischämie (n = 12) ohne Rezirkulation, verursacht durch Ligatur der Arteria renalis

(4) 24-stündige unilaterale normotherme Ischämie (n = 10) ohne Rezirkulation, verursacht durch Ligatur der Arteria renalis

(5) 2-stündige unilaterale normotherme Ischämie durch vorübergehendes Abklemmen der Arteria renalis mit anschließender 14tägiger Wiederdurchblutung (n = 11)

(6) unilaterale Ligatur der Vena renalis (48 Stunden) (n = 10) und

(7) einer Gruppe von Nieren unbehandelter Tiere, die als Kontrollgruppe (n = 88) diente.

Zusätzlich wurden die kontralateralen Nieren der jeweils unilateral operierten Tiere (Gruppe 1 - 6) untersucht und ausgewertet.

2.3 Narkoseverfahren und Operationsmethode

Die Operation der Tiere erfolgte jeweils in Nembutalnarkose, wobei das Narkosemittel intraperitoneal appliziert wurde. Nach einem Flankenschnitt wurde der Ureter der Tiere der Gruppen 1) und 2) freipräpariert und mit einer Seidennaht ligiert. Anschließend wurde die Operationswunde durch Einzelknopfnähte verschlossen und die Nieren nach 10 bzw. 21 Tagen während einer Narkose von einem Mittelschnitt aus entnommen. Ebenfalls von einem Flankenschnitt ausgehend, wurde die Arteria renalis oder die Vena renalis von Tieren der Gruppen 3) - 6) ligiert. Auch hier erfolgte jeweils die beidseitige Nephrektomie von einem Mittelschnitt aus. Unmittelbar der Entnahme folgend, konnten die Nieren auf einer Torsionsbalancewaage mit einer Genauigkeit von 10^{-4} gewogen werden.

Bei hydronephrotisch alterierten Nieren nach Ureterobstruktion erfolgte die Gewichtsmessung erst nachdem das Nierenbecken mit einem Skalpell inzidiert und der gestaute Urin abgetropft war.

2.4 Färbemethode der alkalischen Phosphatase (AP)

Zum lichtmikroskopischen Nachweis der alkalischen Phosphatase wurden Gewebsschnitte der zu untersuchenden Nieren von ca. 0,3 - 0,5 cm Kantenlänge angefertigt und mit der Farbstoffmethode nach Pearse (1961) aufgearbeitet (27). Zunächst wurden die Organteile in Aceton 24 Stunden bei + 4 °C fixiert. Es schloß sich das Wechseln der Präparate in Aceton nach 24 Stunden bei Raumtemperatur an. Danach erfolgte zweimal jeweils 1/2stündiger Wechsel in Petroleumbenzin bei Raumtemperatur. Im Anschluß daran wurden die Präparate in Paraffin-Vakuum bei 400 Torr und 54 - 62 °C 12 Stunden eingebettet. Nun konnten Paraffinschnitte angefertigt werden. Die Entparaffinierung wurde mit Petroleumbenzin, in absteigender Alkoholreihe und aqua dest. durchgeführt. Die Schnitte wurden für 20 Minuten bei + 20°C in eine frisch angesetzte Lösung getaucht, die aus folgenden Substanzen bestand: 100 ml 0,1 M Barbital-Natriumpuffer pH 9,0; 100 mg Naphthyl-1-phosphat Natriumsalz; 50 mg Echtblausalz.

Die Herstellung des Barbital-Natriumpuffers erfolgt nach Michaelis aus der Lösung A: 0,1 M Barbital-Natrium (20,6 g $C_8 M_{11} N_2 Na 0_3$/ l $H_2 0$) und der Lösung B: 0,1 N HCL . Den pH-Wert von 9,0 erhält man durch Mischung von 93,6 ml der Lösung A und 6,4 ml der Lösung B.

Die Präparate wurden nun in aqua dest. gespült und in Eukitt eingedeckt. Das Reaktionsprodukt war braunschwarz (1, 15).

Vorkommen der alkalischen Phosphatase

Die alkalische Phosphatase ist in der Niere wie die Alanin - Aminopeptidase (AAP) in den Mikrovilli der proximalen Tubuli des Nephrons im Bürstensaum lokalisiert (32). Mondorf konnte für die AP ebenso wie für die AAP und γ-Glutamytranspeptidase (GGTP) belegen (34), daß als potentielle Quelle für Harnenzyme das Plasma und damit auch alle Körperorgane wegfallen, da die Möglichkeit der glomerulären Filtration physiologischerweise nur für Substanzen mit einem Molekulargewicht bis zu 70.000 besteht. In der Niere sind 2 Isoenzyme der AP enthalten, ein sog. "Lebertyp" und ein "Dünndarmtyp" oder "intestinaler Typ" (39), die durch Immunfiltration getrennt werden konnten. Pfleiderer et al. meinen, daß die beiden Isoenzme, die aus dem Nierengewebe isoliert werden konnten, unterschiedliche Lokalisationen im Tubulusepithel aufweisen und verschiedene Entwicklungsstufen der Epithelzellen des proximalen Tubulus repräsentieren. Das Molekulargewicht wird für den Lebertyp der AP mit 130 000 und für den intestinalen Typ mit 150 000 angegeben (35). Das Enzym katalysiert im alkalischen Bereich die Spaltung von Estern der Orthophosphorsäure mit verschiedenen Alkoholen und Phenolen. Es ist außerdem in der Lage, manche Verbindungen mit Phosphorylanhydriden zu hydrolysieren und eine Reihe von transphosphorylierenden Reaktionen zu katalysieren. Das pH-Optimum der AP liegt zwischen 9,2 - 9,8 und hängt mit von der Art und Konzentration des Substrates sowie vom Puffer ab. Vor allem kommt des Enzym dort in Zellmembranen vor, wo aktive Transportvorgänge ablaufen, z.B. - wie bereits erwähnt - in den proximalen Tubuluszellen der Niere und auch im Bürstensaum von Enterozyten, in der

Membran am Gallepol der Leberzellen, im Kapillar- und Arteriolenendothel. Weiterhin läßt sich die AP im endoplasmatischen Retikulum, Golgi-Apparat und in Lysosomen von Enterozyten sowie in den Granula neutrophiler Leukozyten nachweisen (27).

2.5 Färbemethode der Alanin-Aminopeptidase (AAP)

Zur analytischen Bestimmung der Alanin-Aminopeptidase wurden die Präparate sofort nach der Entnahme in Isopentan mit flüssigem Stickstoff bei - 170°C eingefroren und unmittelbar im Anschluß in einem Tiefgefrierschrank bei - 70°C aufbewahrt. Mit einem Kryostaten wurden 5 µ dicke Gefrierschnitte angefertigt und auf Objektträger aufgezogen. Für die Färbung wurden als Substrat 24 mg Alanin-β-naphthylamid im Reagenzglas in einigen Tropfen Methanol gelöst und 2 ml aqua dest. dazugegeben (DL-Alanin-β-naphthylamid-HCL; Serva 11530). Das Kopplungssalz bestand aus 30 mg Fast blue Salt B, das in 3 ml aqua dest. im Reagenzglas gelöst wurde. Die benötigte Pufferlösung erhielt man, indem 10 ml 0,1 Barbital-Natriumpuffer pH 7,6 im Becherglas auf 37°C angewärmt und dazu 1 ml 0,02 KCN-Lösung gegeben wurde (0,02 KCN: 1,3024 g/liter). Die Färbelösung erhielt man, indem erst das Substrat, dann das Kopplungssalz in die 10 ml auf 37°C vorgewärmte Pufferlösung beigemischt und anschließend filtriert wurde. Mit einer Pasteurpipette wurde die Lösung auf die Kryostatschnitte gebracht und für 25 Minuten in einer feuchten Kammer bei Raumtemparatur inkubiert. Die Schnitte wurden danach in PBS-Lösung 2 - 3mal für ca. 10 - 15 Minuten jeweils gewaschen.

(PBS-Lösung: 85 g NaCl, 12,8 g Na_2HPO_4, 1,56 g NaM_2PO_4 ad 10 Liter)

Nach 2stündigem Wässern erfolgte die Fixierung in 10 %igem Formalin, Spülung mit aqua dest. und Trocknung. Eingedeckt wurden die Präparate mit Tris-gepuffertem Glycerin 1:9.

Vorkommen der Alanin-Aminopeptidase

Von Rehfeld et al. (45, 46) wurden die AAP biochemisch definiert und von der genuinen Leucinaminopeptidase und anderen Aminopeptidasen abgegrenzt (3). Sie unterscheidet sich von anderen Aminopeptidasen durch ihre Substratspezifität, vorwiegend Alaninpeptibindungen enthaltende Aminoacidnaphthylamide oder Aminoacid-p-nitroanilide, ihr pH-Optimum, das Verhalten gegenüber Effektoren sowie durch die immunchemischen Eigenschaften sowie die elektrophoretische Beweglichkeit (3, 36, 37). Es wurden in der Literatur verschiedene Methoden zur Bestimmung der AAP im Serum (11, 12) und im Urin (12, 51) angegeben. Vorwiegend wurden als Substrate Leucin-ß-naphthylamid (11, 12, 63), Leucin-p-nitroanilid (20, 6, 51), Alanin-4-nitroanilid (22) verwendet. Nach Peters (37, 45, 46) jedoch erwies sich als optimales Substrat L-Alanin-ß-naphthylamid, das auch zum Nachweis der AAP unserer Gewebsschnitte verwendet wurde. Die AAP kommt wie alle Aminopeptidasen in allen Organen und Körperzellen vor, am höchsten jedoch ist ihre Konzentration in der Nierenrinde (44). Über die biologischen Funktionen der intrazellulären Aminopeptidasen existieren in der vorhandenen Literatur noch keine sicheren Angaben. Klaus (24) ist der Ansicht, daß die Aminopeptidasen möglicherweise

durch die Bereitstellung der Aminosäuren und durch bestimmte Peptidknüpfungen bzw. Transpeptidierungen eine indirekte Bedeutung für den intrazellulären Proteinaufbau haben. Auf eine Beteiligung an basalen Zellmechanismen weist die Ubiquität der Aminopeptidasen. Im Bürstensaum der Nierentubuli sind sie wahrscheinlich an der Vorbereitung der Proteine für die Pinozytose beteiligt (58). Nach Untersuchungen von Mondorf et al. (35) ergab sich für die AAP ein Molekulargewicht von 240.000. Sie ist als sog. Markerenzym des Bürstensaums in den proximalen Tubuli contorti an der luminalen Grenzmembran in Form sog. "knobs" verankert (7). Entsprechende Tierversuche bestätigten dies (23, 40). Mondorf wies in seinen Arbeiten nach (32, 23), daß die AAP als ein Leitenzym des Bürstensaums neben der AP und GGTP eine klinische Relevanz besitzt und damit zur Erkennung tubulärer Erkrankungen geeignet ist.

2.6 Histophotometrie enzymatisch angefärbter Nierengewebe mit einem computer-gestützten Bildanalysator "Micro-Videomat 2", Zeiss

Mit Hilfe des computer-gestützten Bildanalysators "Micro-Videomat 2", Zeiss, Oberkochen, FRG (s. Abb. 1a und 1b) wurden die enzym-histochemisch angefärbten Nierengewebsschnitte quantitativ analysiert (9). Das Bildanalysegerät ist durch einen Calculator gesteuert. Dabei übernimmt der Tischrechner HP 9825 die gesamte Meßwertverarbeitung und Protokollierung der Meßergebnisse. Mit dem "Micro-Videomat 2" kann eine quantitative Bildanalyse der enzym-histochemisch angefärbten Nierengewebe durchgeführt werden. Im stereologischen Bereich sind damit Flächenmessungen möglich. Durch histophotometrische Messungen, wie sie in dieser Versuchsreihe angewendet wurden, ist es möglich, Absorptionen der enzym-histochemisch ange-

(Text weiter S. 12)

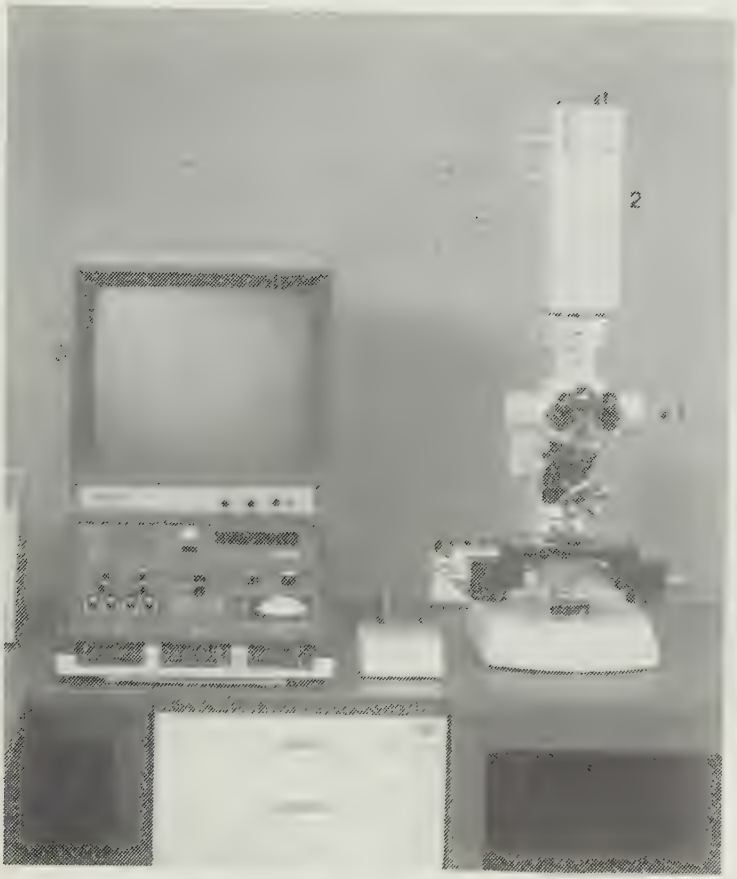


Abb. 1a: Dargestellt ist ein Photomikroskop III, Zeiss (1), darauf ist eine TV-Kamera (2) montiert. Das mikroskopische Bild wird auf dem Monitor (3) des "Micro-Videomat 2" dargestellt. Nach Transformierung der histophotometrisch gemessenen Signale mit einem A/D-Konverter werden die Ergebnisse digital auf der Anzeigefläche dargestellt.

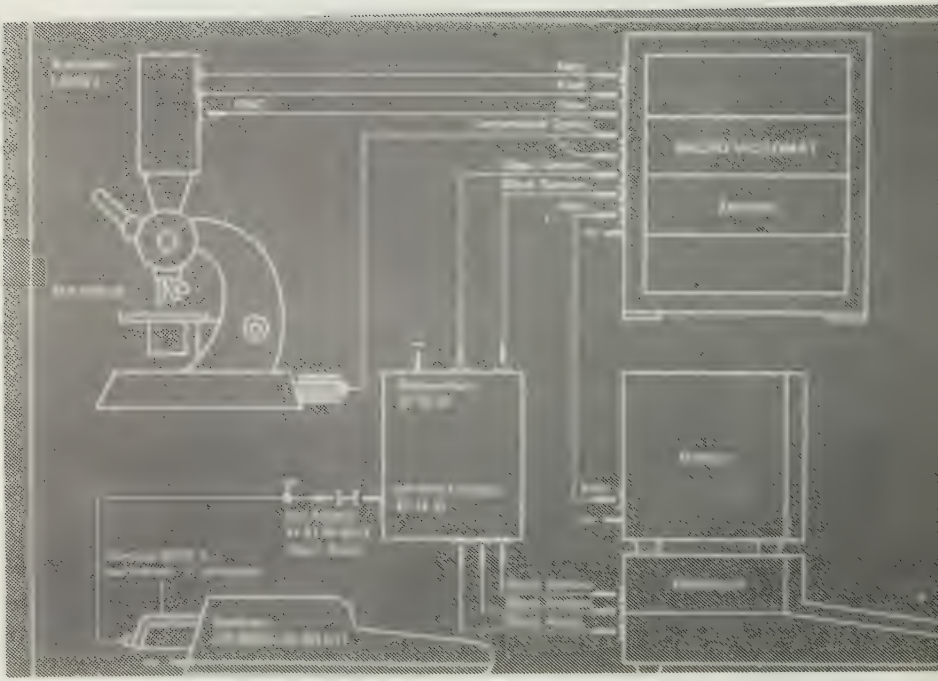


Abb. 1b: Schematische Darstellung der technischen Verbindungen der Gerätekombination einer hardware des "Micro-Videomat 2". Die Verarbeitung der Histometrie von Nierengewebsschnitten erfolgte über ein BUS-Interface. Die Auswertung wurde von einem HP 9825 Rechner durchgeführt. Zusätzlich kann noch ein Schreiber zur Darstellung der Histogramme angeschlossen werden (9, 16).

färbten Gewebsschnitte zu ermitteln. Die Absorptionsmessungen korrelieren direkt mit Enzymaktivitäten im Gewebe, wie sie durch unterschiedliche Anfärbbarkeit repräsentiert werden(61,62).Mit der Helligkeitsklassierung können helle oder dunkle Objekte entsprechend ihrer Intensität bewertet werden (9). Die Konzentrationen der AP konnten mit polychromatischem Licht gemessen werden. Pro Nierengewebsschnitt wurden mindestens 5 - 10mal 1,54 mm^2 große Felder analysiert und die Meßwerte zum endgültigen Ergebnis gemittelt. Diese Meßergebnisse sind dann jeweils als einzelne Punkte in den Diagrammen eingezeichnet. Es wurden pro Bildausschnitt 100 - 200 Tubuli ausgewertet, die Meßgenauigkeit betrug 3 - 5 %. Der Computer kann in 1/25 Sekunde 320.000 - 1.280.000 Meßsignale auswerten. Die Einstellung des Graubereiches ist in einem Bereich von 0 - 1.000 Skalenteilen möglich. Unsere Analysen sind so dargestellt, daß jedes Meßergebnis angibt, wie hoch die Absorption eines enzymhistochemisch angefärbten Nierenrindenschnittes in bezug auf eine komplette Absorption der Bildfläche in $^{o}/_{oo}$ war und ist hier in Units (U) aufgezeichnet. Die Schnitte der enzymatisch angefärbten AAP wurden mit monochromatischem Licht bei 490 nm ausgewertet.

Mit Hilfe eines Schreibers war es zusätzlich zu einer unmittelbaren digitalen Anzeige möglich, analoge lineare Darstellungen der Enzymkonzentration aufzuzeichnen (16, 17), die die Profile der Enzymaktivitäten über das ganze Objektbild erkennen lassen.

2.7 Statistische Methoden

Statistische Analysen wurden erstellt durch Berechnung der Mittelwerte (X) und der Standardabweichungen (S) mit einem Olivetti Tischcomputer "Programma 101". Zur Berechnung der statistisch evaluierbaren Signi-

fikanzen ($2\,p < 0{,}05$) diente der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Zur Berechnung der Signifikanzen wurde der Hewlett-Packard (HP 10) Computer verwendet.

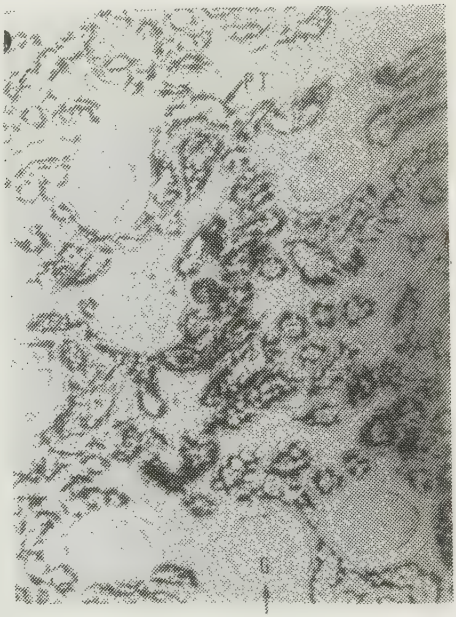
3. Ergebnisse

Die Konzentrationen der alkalischen Phosphatase (AP) und der Alanin-Aminopeptidase (AAP) in Schnitten normalen Nierenrindengewebes von Wistar-Ratten wiesen gleichmäßig hohe Meßwerte auf (s. Abb. 2 und 3 und Tab. 1 und 2). Die Enzymaktivitäten wurden im Cortexgewebe von Kontrollnieren folgendermaßen analysiert: Glomerula, distale Tubuli und Markgewebe waren frei von Enzymfärbungen der AP und AAP.
Im Gegensatz dazu waren die Gewebskonzentrationen der AP und AAP in Nierenrindenschnitten nach definierten hier beschriebenen Alterationen, wie Ureterobstruktion, Ligatur der Arteria renalis und Vena renalis signifikant vermindert gemessen. So zeigten die Enzymaktivitäten der Nierenrinde nach unilateraler Ureterobstruktion von 10 Tagen signifikante ($2\,p < 0{,}01$) Abnahmen der Konzentrationen beider Enzyme: AP $39{,}7 \pm 34{,}3$ U ($n = 13$) und AAP $433{,}2 \pm 282{,}3$ ($n = 13$) (s. Tab. 1 und 2, Abb. 4, 5, 6 und 7).

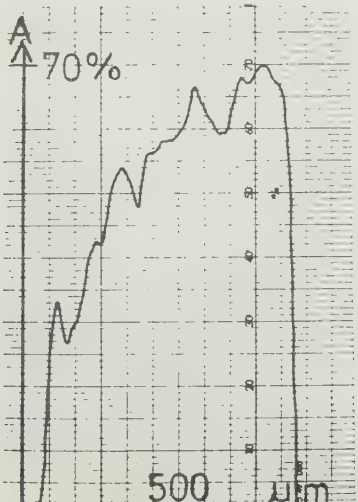
Erwartungsgemäß stärker ausgeprägt und ebenfalls signifikant nachweisbar war die Abnahme der Enzymkonzentrationen der AP ($2\,p < 0{,}01$) und auch der AAP ($2\,p < 0{,}0001$) nach 21tägiger Ureterobstruktion:
AP $8{,}0 \pm 7{,}0$ U ($n = 6$), AAP $197{,}6 \pm 227{,}9$ U ($n = 6$) (s. Gruppe 2 in Tab. 1 und 2, Abb. 8, 9 und 10). In beiden Fällen, nach 10 und 21 Tagen Ureterligatur, nahmen die Enzymprofile der AAP der nicht ligierten kontralateralen Nieren signifikant gegenüber den Kontrollnieren unbehandelter Ratten zu ($2\,p < 0{,}01$, AAP) (s. Tab. 2 und Abb. 6 und 10).
(Text weiter S. 25)

Abb. 2: Darstellung der alkalischen Phosphatase (AP) im Nierengewebe einer gesunden Wistar-Rattenniere

a) Makroskopische Aufnahme:
Der Nierenquerschnitt zeigt eine gleichmäßige Enzymanfärbung der AP in den proximalen Tubuli der Nierenrinde (NR). Das Markgewebe (M) ist frei von Enzymaktivitäten der AP.
Vergrößerung: 1:10

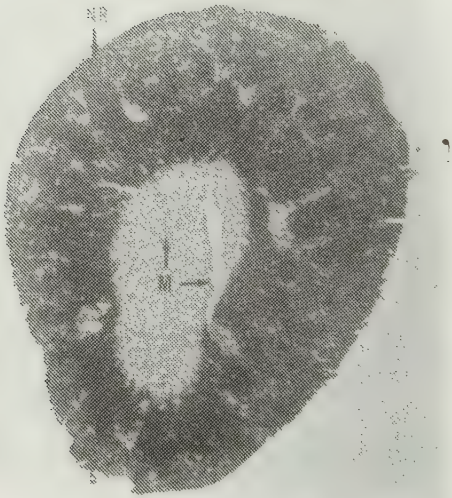


(b) Mikroskopische Aufnahme der Nierenrinde:
Das Enzym AP ist in großen Konzentrationen im Bürstensaum der proximalen Tubuli (PT) lokalisiert. Die Glomerula (G) zeigen erwartungsgemäß keine Anfärbbarkeit bzw. Enzymaktivitäten der AP.
Vergrößerung: 1:160

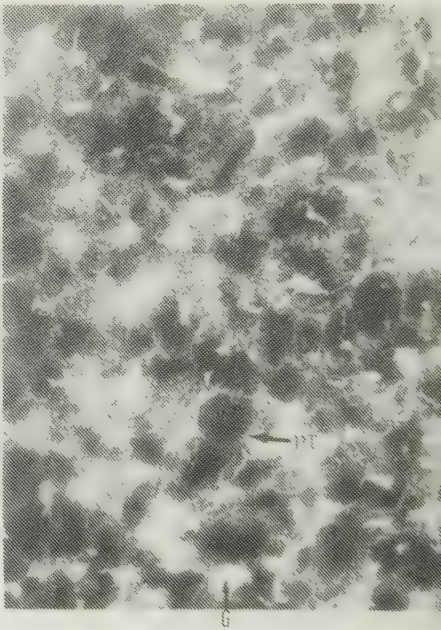


(c) Histogramm der Enzymkonzentration der AP im Cortex einer gesunden Rattenniere:
Ordinate: Absorption (A) in Prozent korreliert mit der gemessenen Enzymkonzentration in der Nierenrinde.
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm (l)
Papierlaufgeschwindigkeit: 60 cm/min während der analogen Schreibung

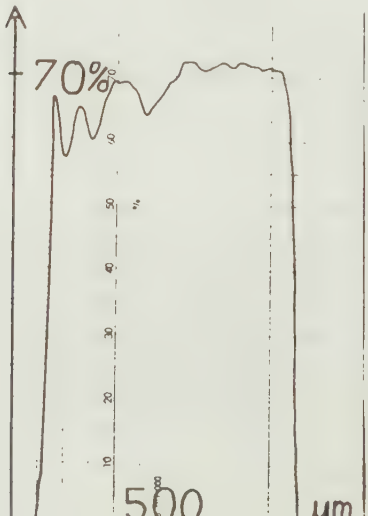
Abb. 3: Enzymanfärbung der Alanin-Aminopeptidase (AAP) im Nierengewebsschnitt einer gesunden Rattenniere



(a) Makroskopische Aufnahme:
Zu sehen ist eine gleichmäßige intensive Anfärbung des Enzyms (AAP) in der Nierenrinde (NR), das Markgewebe (M) ist frei von Anfärbbarkeit der AAP.
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
Deutliche Anfärbung der AAP im Bürstensaum der proximalen Tubuli (PT) die Glomerula (G) weisen keine AAP Aktivitäten auf.
Vergrößerung: 1:160



(c) Histogramm der AAP-Enzymaktivität im gesunden Nierenrindengewebe einer Wistar-Ratte:
Die Konzentration der AAP im Rindengewebe entspricht einer Absorption von über 70 %.
Ordinate: Absorption (A)
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm
Papierlaufgeschwindigkeit: 60 cm/min

Tab. 1: Enzymaktivitäten der alkalischen Phosphatase (AP) in Nierengewebsschnitten von gesunden und geschädigten Nieren nach Ureterobstruktion, Ischämie und Ligatur der Vena renalis. Ein computer-assistierter Bildanalysator "Micro-Videomat 2" (s. Abb. 1a und 1b) wurde zur histophotometrischen Analyse eingesetzt.

Gruppe	Anzahl d.Nieren	Art der Schädigung	Zeit	Enzymkonzentration in Units Mittelwerte ± Standardabweichg.	Signifikanz 2 p
1 a	12	Ureterobstruktion	10 d	39,7±34,3	$< 0,01$
b	12	kontralat. Nieren		279,9±40,6	$< 0,05$
2 a	6	Ureterobstruktion	21 d	8,0± 7,0	$< 0,01$
b	6	kontralat. Nieren		282,6±51,3	$> 0,15$
3 a	12	Ischämie	2 h	271,5±63,2	$< 0,05$
b	12	kontralat. Nieren		343,1±93,3	$> 0,3$
4 a	10	Ischämie	24 h	68,6±71,2	$< 0,01$
b	10	kontralat. Nieren		248,3±55,0	$< 0,05$
5 a	11	Ischämie mit postisch. Wiederdurchblutung	2 h + 14 d	68,2± 56,1	$< 0,01$
b	11	kontralat. Nieren		362,9±91,4	$> 0,09$
6 a	10	Ligatur der Vena renalis	48 h	137,2±93,9	$< 0,01$
b	10	kontralat. Nieren		288,2±42,6	$> 0,12$
7	64	Kontrollnieren	-	321,7±94,9	-

Tab. 2: Konzentrationen der Alanin-Aminopeptidase (AAP) in Nierengewebsschnitten von gesunden und geschädigten Nieren nach Ureterobstruktion, Ischämie und Ligatur der Vena renalis, gemessen mit einem computer-gesteuerten Bildanalysator "Micro-Videomat 2" (s. Abb. 1a und 1b)

Gruppe	Anzahl d.Nieren	Art der Schädigung	Zeit	Enzymkonzentration in Units Mittelwerte ± Standardabweichg.	Signifikanz 2 p
1 a	12	Ureterobstruktion	10 d	433,2±282,3	< 0,01
b	12	kontralat.Nieren		855,0± 94,7	< 0,01
2 a	6	Ureterobstruktion	21 d	197,6±227,9	< 0,001
b	6	kontralat.Nieren		854,1± 79,0	< 0,01
3 a	12	Ischämie	2 h	805,8±172,6	> 0,1
b	12	kontralat.Nieren		881,7± 38,4	< 0,001
4 a	10	Ischämie	24 h	735,6±162,2	> 0,1
b	10	kontralat. Nieren		898,8± 45,8	< 0,001
5 a	11	Ischämie mit postischämischer Wiederdurchblutung	2 h + 14 d	532,5±193,3	< 0,01
b	11	kontralat. Nieren		880,7± 50,4	< 0,001
6 a	8	Ligatur der Vena renalis	48 h	584,3±148,9	< 0,05
b	8	kontralat.Nieren		889,8± 51,3	< 0,001
7	24	Kontrollnieren	-	708,8±122,3	-

Abb. 4: Diagramm der Enzymaktivitäten der alkalischen Phosphatase (AP) von Normalnieren, Organen nach Ureterligatur von 10 Tagen und den dazugehörigen kontralateralen Nieren. Nach Ureterligatur ergab sich eine signifikante Verminderung ($2p < 0,01$) der Enzymkonzentrationen der geschädigten Nieren wie auch der kontralateralen Organe ($2p < 0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe.
Ordinate: Enzymkonzentration in Units (U) entsprechend der bei Flächenmessungen ermittelten Absorption in ‰

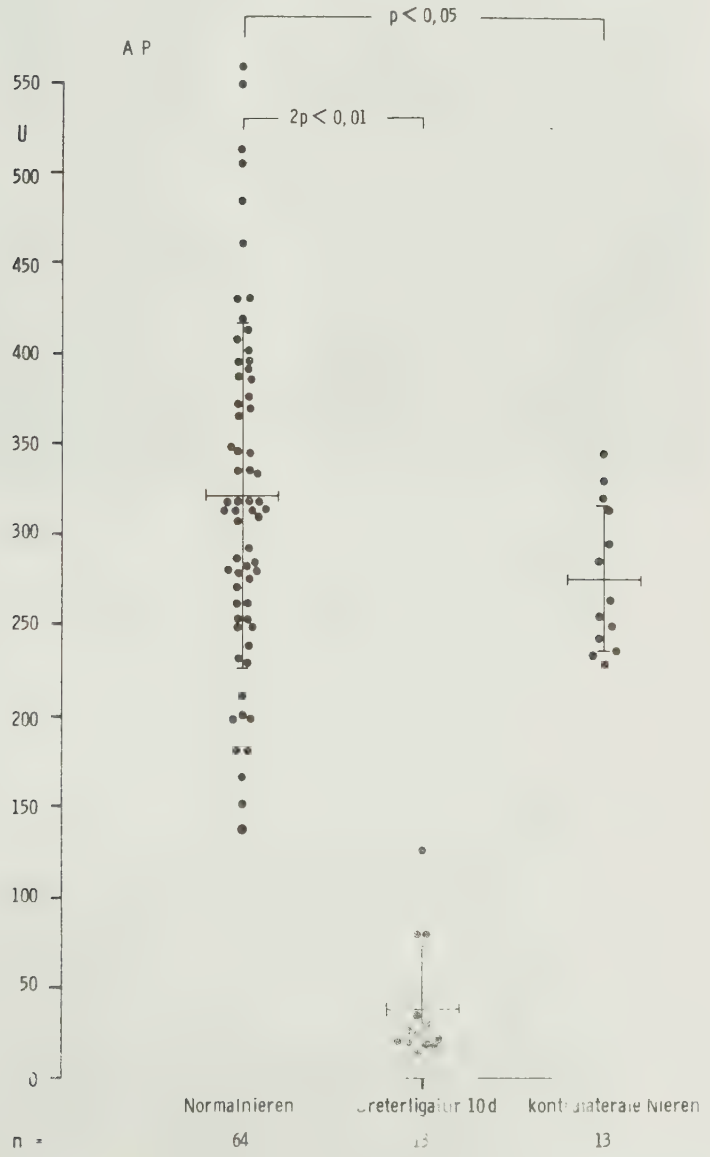
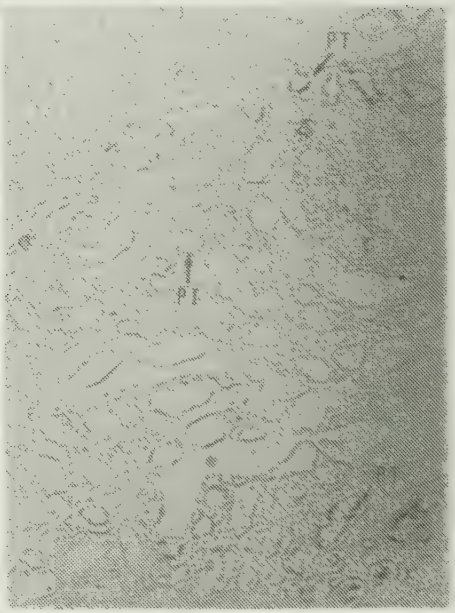
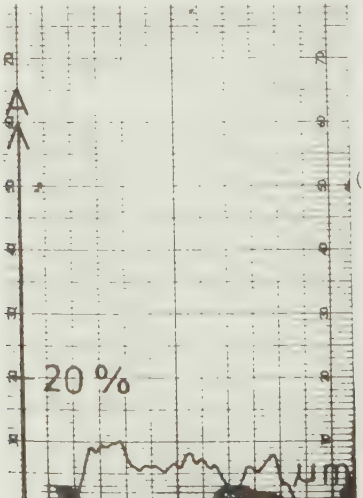


Abb. 5: Darstellung der AP im Nierenschnitt einer Wistarratte nach unilateraler Ureterligatur von 10 Tagen

(a) Makroskopische Aufnahme eines Nierenquerschnittes:
Das Nierenbecken (NB) ist hydronephrotisch erweitert, deutlicher Enzymverlust in der Nierenrinde, nur noch in den Randbezirken ist geringe Enzymaktivität nachweisbar (AP).
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
In den proximalen Tubuli (PT) ist nur noch vereinzelt ein Rest von Enzymaktivität zu erkennen (AP).
Vergrößerung: 1 : 100



(c) Histogramm eines hydronephrotisch alterierten Cortexgewebes nach 10-tägiger Ureterligatur:
Dem Aktivitätsverlust entspricht ein Verlust der Absorption (A) der durch die Anfärbbarkeit nachweisbaren AP auf Werte von weniger als 10 % der Gesamtabsorption pro Fläche eines Nierengewebsschnittes.
Abszisse: 1000 µm
Ordinate: Absorption (A)

Abb. 6: Enzymaktivitäten der AAP in Kontrollnieren, in Nieren nach einer Ureterligatur von 10 Tagen und in kontralateralen unbehandelten Organen. Die Verminderung der Enzymkonzentration der hydronephrotisch alterierten Nieren ist signifikant ($2p < 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe. Ebenfalls signifikant ist auch der Anstieg der Enzymaktivität der kontralateralen Nieren gegenüber den gesunden Organen ($2p < 0,01$).
Ordinate: Enzymkonzentration in Units (U)

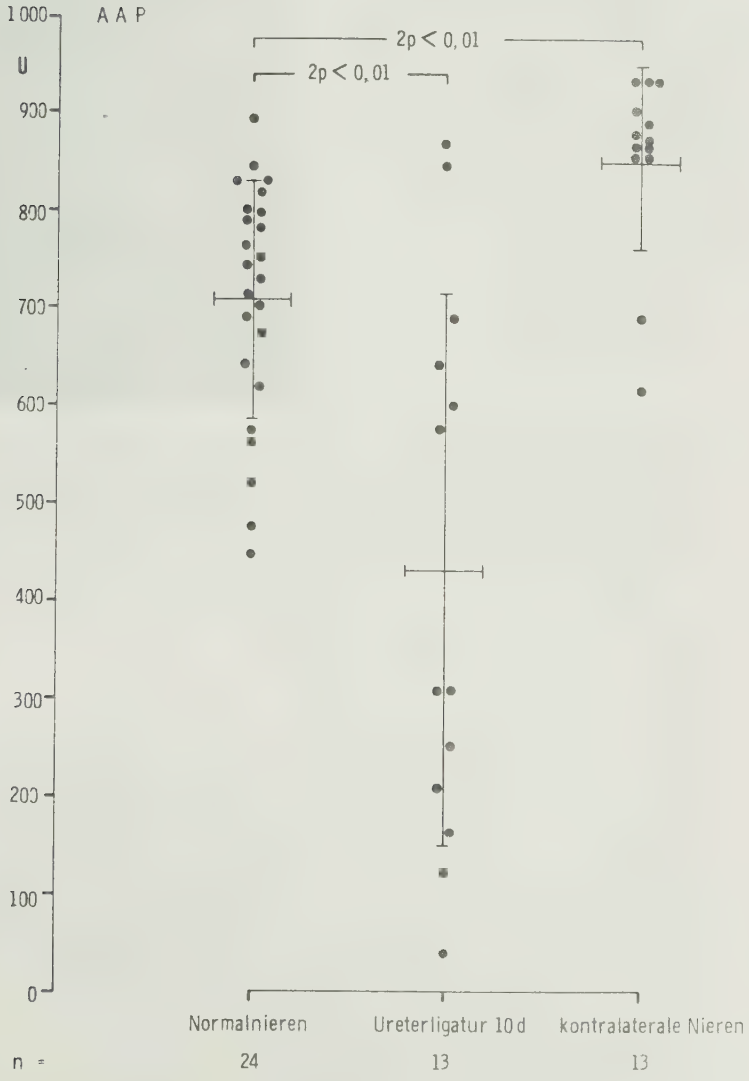
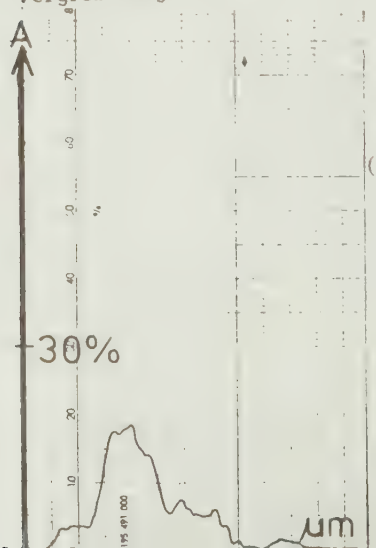


Abb. 7: Enzymaktivitäten der AAP einer Rattenniere nach einer Ureterligatur von 10 Tagen

(a) Makroskopische Aufnahme: Das Nierenbecken (NB) ist hydronephrotisch erweitert, die Nierenrinde ist atrophiert. Die Enzymkonzentration in der Nierenrinde ist signifikant vermindert (NR).
Vergrößerung: 1 : 10

(b) Mikroskopische Aufnahme: 10 Tage nach unilateraler Ureterligatur läßt sich eine signifikante Abnahme der Enzymaktivität der AAP erkennen. Einige Areale enthalten noch restliche Enzymkonzentrationen.
Vergrößerung: 1 : 160



(c) Histogramm der AAP-Konzentration in einer Rattennierenrinde nach Ureterligatur von 10 Tagen: Es ist ein signifikanter Aktivitätsverlust der AAP erkennbar, der einem Verlust der Absorption (A) auf Werte von weniger als 18 % der Gesamtabsorption pro Fläche eines Nierengewebsschnittes entspricht.
Abszisse: 1000 um
Ordinate: Absorption (A)

Abb. 8: Enzymaktivitäten der AP in gesunden Nieren, Organen nach Ureterligatur von 21 Tagen und den dazugehörigen kontralateralen Nieren. Die Enzymaktivitäten der Nierenrinde nach Harnleiterligatur betrugen weniger als 5 % im Vergleich zu Kontrollorganen ($2p < 0,01$), die AP-Konzentrationen der kontralateralen Seite sind vermindert gegenüber den AP-Konzentrationen in Normalnieren; jedoch ist diese Verminderung nicht signifikant.
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U) histophotometrisch ermittelt

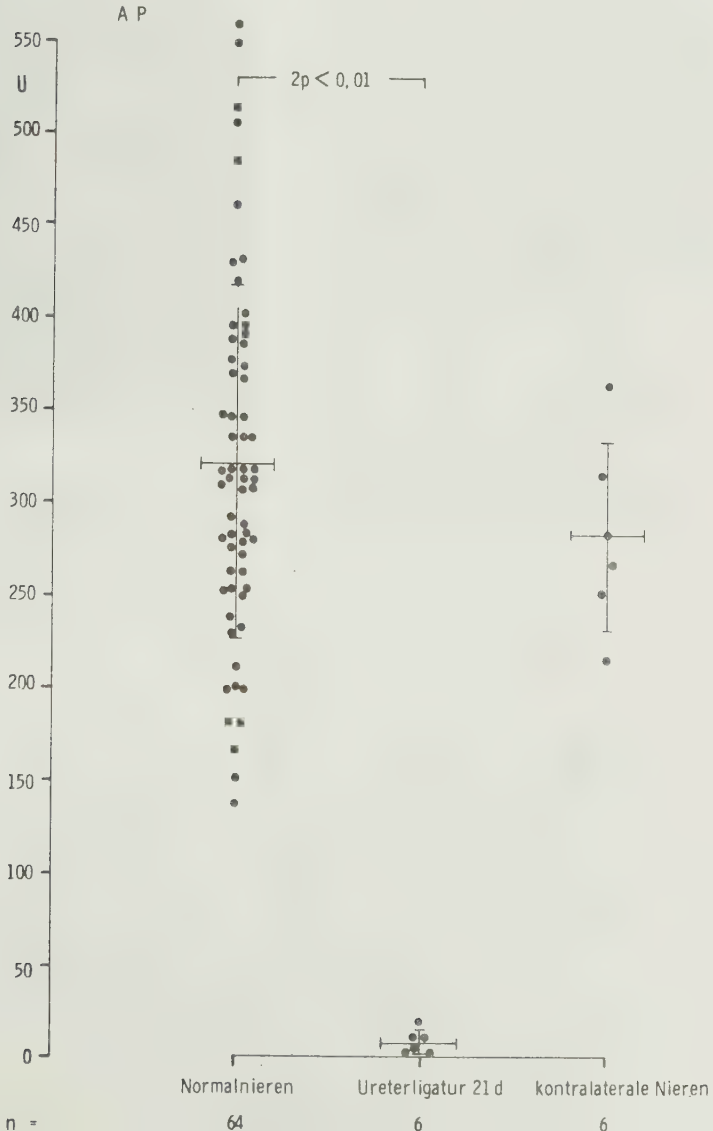
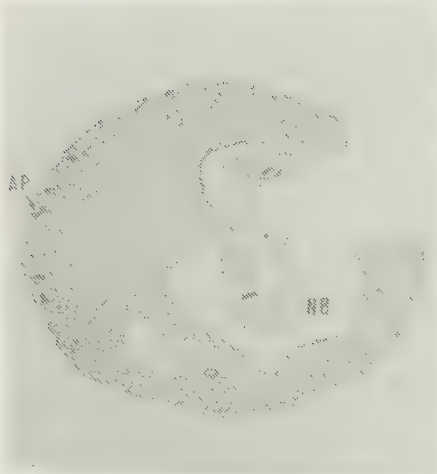
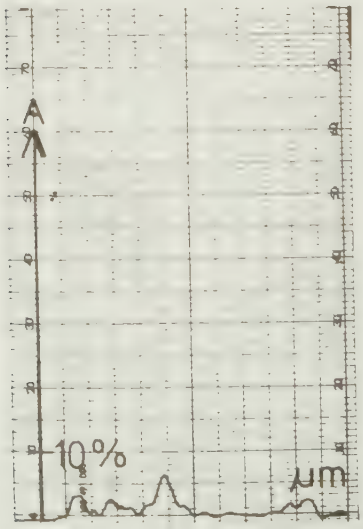


Abb. 9: Enzymaktivität der AP im Gewebsschnitt einer Rattenniere nach Ureterligatur von 21 Tagen



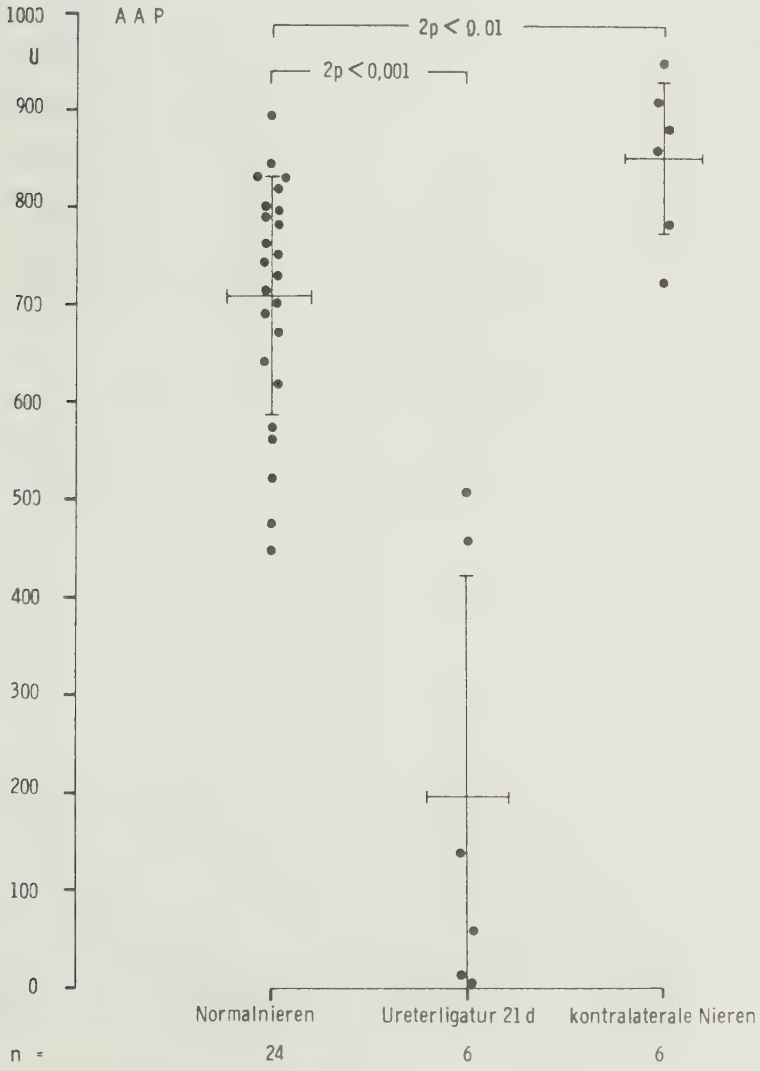
(a) Makroskopische Aufnahme:
Das Nierenbecken (NB) ist hydronephrotisch erweitert, das Nierenrindengewebe atrophiert; im Cortex sind nur noch geringe Reste von Enzymkonzentration der AP im Bereich der proximalen Tubuli vorhanden. Die AP-Konzentration ist signifikant gegenuber Kontrollen vermindert.
Vergrößerung: 1:10

(b) Mikroskopische Aufnahme:
In den proximalen Tubuli (PT) ist die Aktivität der AP signifikant vermindert; nur noch vereinzelte Enzymreste lassen sich nachweisen.
Vergrößerung: 1:100



(c) Histogramm einer Niere nach 21-tägiger Ureterligatur
Darstellung der AP-Enzymaktivität: die bildanalytisch gemessene Absorption (A) des Nierenrindengewebes sank auf 0-6 % in bezug auf die maximale Absorption, die pro Bildfläche gemessen werden kann.
Ordinate: Absorption (A)
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm

Abb. 10: Aktivität der Alanin-Aminopeptidase (AAP) in Normalnieren Organen nach 21-tägiger Ureterligatur und kontralateralen Nieren. Signifikant ist die Abnahme der AAP alterierter Nieren nach 21-tägiger Ureterligatur im Vergleich zur Kontrollgruppe ($2p < 0{,}001$). Ebenfalls signifikant ist die Zunahme der Enzymkonzentrationen in den kontralateralen Nieren gegenüber den gesunden Organen ($2p < 0{,}01$).
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)



Im Gegensatz dazu zeigten die Enzymkonzentrationen der AP in den gleichen kontralateralen Gruppen nach 10 und nach 21 Tagen Ureterligatur eine Abnahme, die jedoch nicht signifikant war (s. Tab. 1, Abb. 4 und 6).

Die Rattennieren nach 2-tägiger Nierenvenenligatur wiesen eine signifikante Abnahme der Enzymaktivitäten auf: AAP $2\ p < 0{,}05$ und AP $2\ p < 0{,}01$. Die Werte der AAP betrugen $584{,}3 \pm 148{,}9$ U ($n = 8$) und die der AP bei $137{,}2 \pm 93{,}9$ U ($n = 10$) (s. Tab. 1 und 2, Abb. 11, 12 und 13). Die unligierten kontralateralen Nieren zeigten einen signifikanten Anstieg der AAP-Enzymkonzentrationen, während Messungen der AP derselben Gruppe eine leichte, jedoch nicht signifikante Abnahme der Enzymaktivitäten aufwiesen.

Auch nach Ischämien konnten signifikante Abnahmen der Enzymaktivitäten gemessen werden. Die Enzymkonzentrationen betrugen in der Gruppe der 2-stündigen normothermen Ischämien ohne Rezirkulation für die AP $271{,}5 \pm 63{,}2$ U ($n = 12$) ($p < 0{,}05$), während die AAP mit Enzymkonzentrationswerten von $805{,}8 \pm 172{,}6$ U ($n = 12$) leicht, jedoch nicht signifikant erhöht war. Die kontralateralen Nieren wiesen in dieser Gruppe 3 erhöhte Enzymaktivitäten auf, es waren dabei die Aktivitäten der AAP signifikant erhöht (s. Tab. 1 und 2, Abb. 14, 15 und 16).

Nach unilateraler Nierenarterienligatur von 24 Stunden (s. Gruppe 4 in Tab. 2) waren die Meßwerte der AP-Konzentrationen gegenüber Normalnieren signifikant ($2\ p < 0{,}01$) vermindert: AP $68{,}6 \pm 71{,}2$ U ($n = 10$) (s. Abb. 17 und 18). Für die AAP wurden nach 24-stündiger normothermer Ischämie Werte von $735{,}6 \pm 162{,}2$ U gemessen. Das bedeutet eine signifikante Differenz der Enzymaktivitäten ($2\ p < 0{,}01$)

(Text weiter S. 32)

Abb. 11: Konzentration der AAP in Normalnieren, Organen nach 48-stündiger Ligatur der Vena renalis und in kontralateralen Nieren. Signifikant ist der Abfall alterierter Nieren ($2\,p < 0{,}05$) nach 48-stündiger Venenligatur und ebenfalls signifikant der Anstieg der kontralateralen Nieren ($2\,p < 0{,}001$) gegenüber Normalnieren.
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)

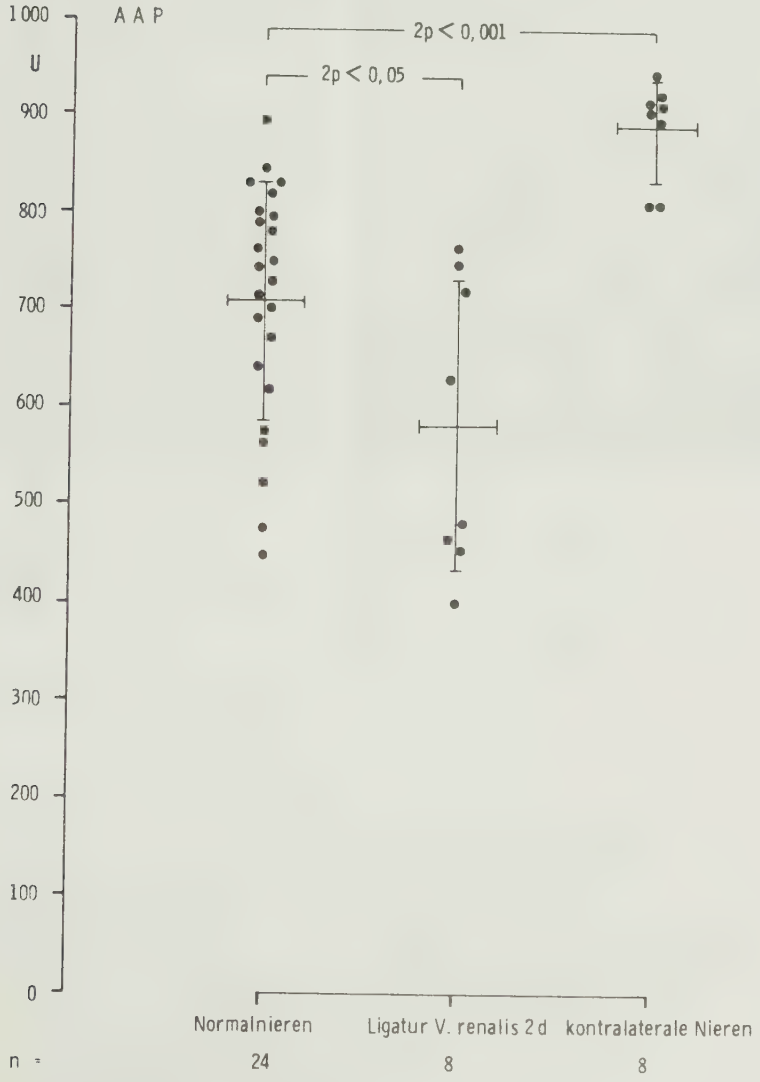


Abb. 12: Gewebskonzentration der AP in Normalnieren, Organen nach 48-stündiger Ligatur der Vena renalis und in kontralateralen Nieren. Signifikant ist die Verminderung der Enzymaktivität der geschädigten Organe gegenüber Normalnieren. Die Konzentration der kontralateralen Nieren ist vermindert gegenüber Normalnieren. Das steht im Gegensatz zu Enzymaktivitäten der AAP nach 48-stündiger Ligatur der Vena renalis, wobei sich hier ein signifikanter Anstieg analysieren ließ (vgl. Abb. 11).
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)

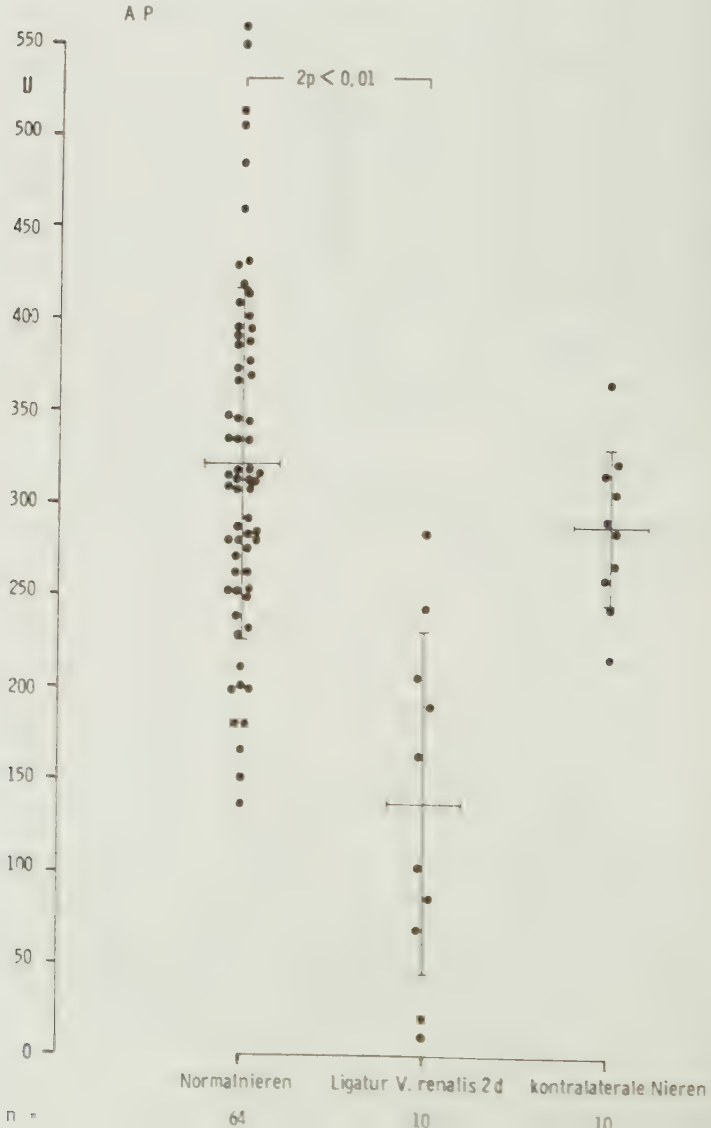
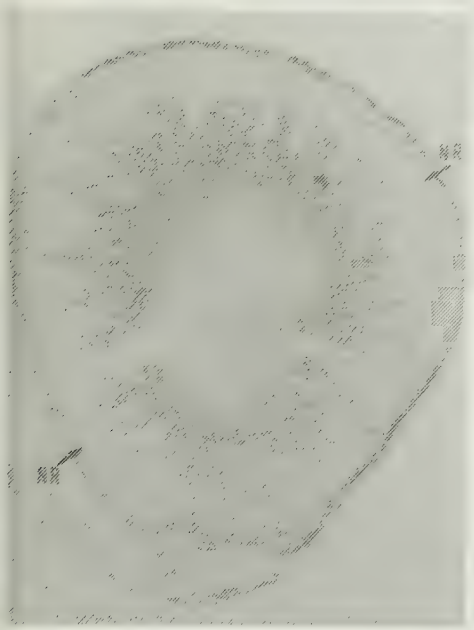
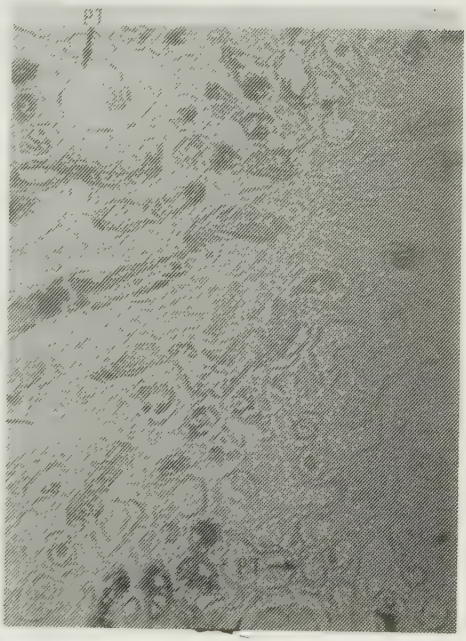


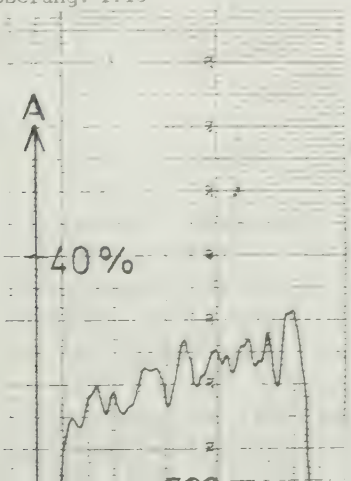
Abb. 13: Anfärbung der AP im 5 um dicken Nierenrindenschnitt einer Rattenniere nach unilateraler Ligatur der Vena renalis von zwei Tagen



(a) Makroskopische Aufnahme:
Es ist eine deutliche Schwellung der Niere feststellbar; in kapselnahen Bezirken des Nierenrindengewebes (NR) ist ein signifikanter Verlust von Enzymaktivität nachzuweisen.
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
In vielen proximalen Tubuli (PT) sind signifikante Abnahmen der Enzymaktivitäten zu erkennen. Nur noch einige Tubuli enthalten restliche AP-Konzentrationen. Zusätzlich fällt eine ödematöse Verbreiterung im interstitiellen Gewebe auf.
Vergrößerung: 1:100



(c) Histogramm eines Cortexgewebes der Niere nach 2-tägiger Ligatur der Vena renalis:.
Die Absorption (A) des Nierenrindengewebes ist auf weniger als 31 % in bezug auf die maximale pro Bildfläche meßbare Absorption abgesunken.
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm

Abb. 14: Enzymkonzentration der AP im Nierenrindengewebe von gesunden Nieren, Organen, die einer 2-stündigen Ischämie ausgesetzt waren und in kontralateralen Nieren. Signifikant durch Ligatur der Arteria renalis ist die Abnahme der Enzymaktivitäten in den geschädigten Organen ($2p < 0,05$) gegenüber den Normalnieren. Eine geringgradige nicht signifikante Erhöhung der AP-Aktivitäten wurde in kontralateralen Nieren gegenüber Normalnieren gemessen.
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)

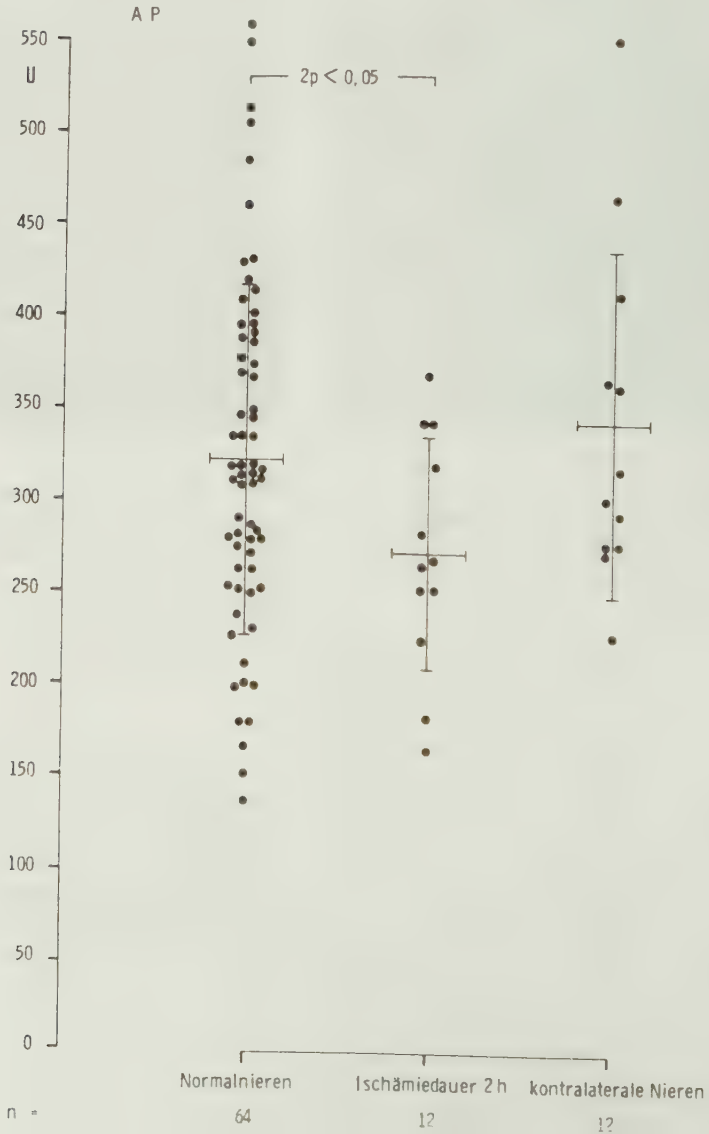
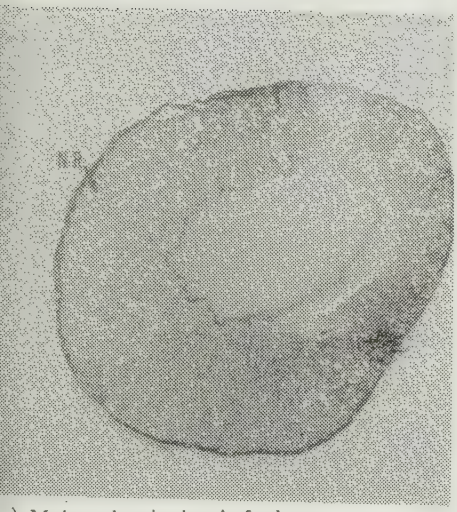
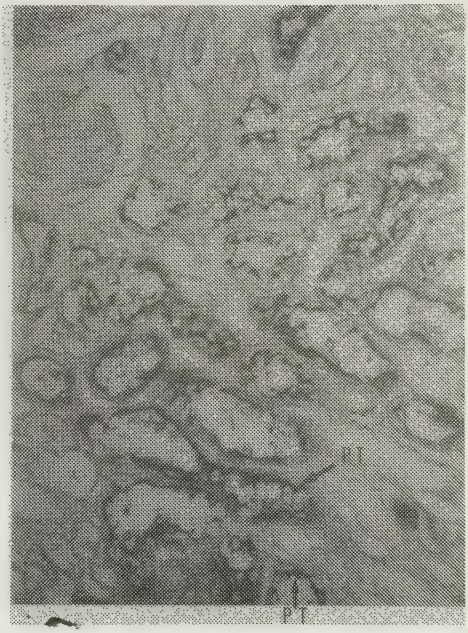


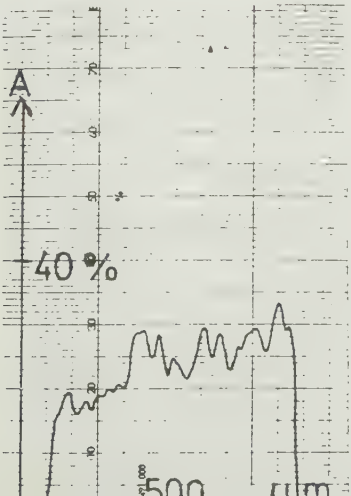
Abb. 15: Färbung der AP im Schnitt einer Rattenniere nach 2-stündiger Ligatur der Arteria renalis



a) Makroskopische Aufnahme:
Das Nierenrindengewebe (NR) zeigt noch in allen Bereichen Enzymaktivität; in einigen Arealen ist jedoch schon makroskopisch eine Verminderung der Enzymkonzentration nachweisbar.
Vergrößerung: 1:10



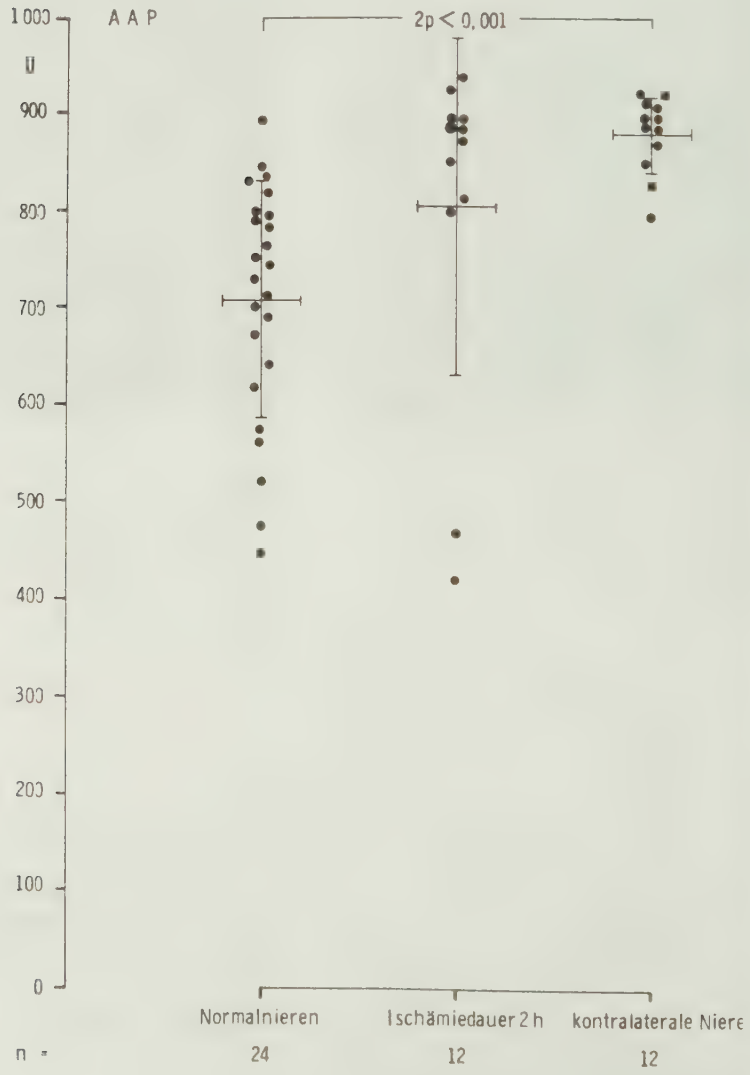
(b) Mikroskopische Aufnahme:
Die Enzymaktivität der AP ist im Bürstensaum der proximalen Tubuli erkennbar (PT); in einigen Tubuli läßt sich bereits ein Verlust der AP-Enzymkonzentration feststellen.
Vergrößerung: 1:160



(c) Histogramm eines Nierenrindengewebes nach 2-stündiger Ligatur der Arteria renalis:
Die Verminderung der Enzymkonzentration der AP entspricht einem Verlust der Absorption (A) auf Werte von weniger als 34 % der Gesamtabsorption.
Ordinate: Absorption (A)
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm

Abb. 16: Gewebskonzentrationen der AAP in gesunden Nieren, Organen nach Ligatur der Arteria renalis für zwei Stunden und in kontralateralen Nieren. Erhöht ist die AAP-Aktivität in geschädigten Nieren nach 2-stündiger Arterienligatur, signifikant erhöht in kontralateralen Nieren (2 p 0,001) im Vergleich zu den Kontrollnieren.

Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)



gegenüber den kontralateralen unligierten Nieren (s. Abb. 19). Allerdings fanden sich die Enzymaktivitäten der AAP in Nieren nach 24-stündiger Ischämie erhöht gegenüber unbehandelten Kontrollnieren, jedoch war die Erhöhung der Enzymaktivität nicht signifikant.
Die kontralateralen Nieren wiesen eine signifikante Zunahme der Enzymaktivitäten der AAP gegenüber Kontrollnieren auf. Dagegen zeigte die AP eine Tendenz zur Abnahme, die jedoch nicht signifikant war (s. Abb. 17 und 19 sowie Tab. 1 und 2).

In der dritten Gruppe der ischämisch geschädigten Nieren nach 2-stündiger unilateraler Nierenarterienabklemmung und anschließender 14-tägiger postischämischer Wiederdurchblutung fanden sich signifikante Abnahmen der Enzymkonzentrationen sowohl für die AP ($2\ p < 0{,}01$) : $68{,}2 \pm 56{,}1$ U ($n = 11$) als auch für die AAP ($2\ p < 0{,}01$) : $532{,}5 \pm 193{,}3$ U ($n = 11$) gegenüber den Enzymaktivitäten der AP und AAP der Kontrollnieren (s. Tab. 1 und 2, Abb. 20, 21, 22 und 23). Die AAP-Aktivitäten der kontralateralen Nieren dieser Gruppe waren gegenüber Kontrollen signifikant erhöht. Die Enzymkonzentrationen der AP der kontralateralen unbehandelten Nieren der Ratten in Gruppe 5b (s.Tab.1) zeigten höhere Werte als die gemessenen Enzymkonzentrationen in der Kontrollgruppe; hier war der Anstieg im Vergleich zu normalen Rattennieren nicht signifikant (s. Abb. 20).

Der Effekt der unilateralen Ureterobstruktion auf die Gewichte der geschädigten und der dazugehörigen kontralateralen Nieren zeigen die Tab. 3 sowie Abb. 24 und 25. Das Gewicht der ligierten Nieren war nach 10 Tagen signifikant erhöht. Nach 21 Tagen Ligatur waren die Gewichte der Nieren nach Entleerung des gestauten Nierenbeckens noch deutlich höher als nach Ureterobstruktion von 10 Tagen angestiegen.
(Text weiter S. 43)

Abb. 17: Konzentrationen der alkalischen Phosphatase (AP) in Normalnieren, Organen, die einer Ligatur der Arteria renalis für 24 Stunden unter Normothermie ausgesetzt waren und in kontralateralen Nieren. Es ist gegenüber Normalnieren ein signifikanter Abfall der Enzymaktivitäten zu messen ($2p < 0,01$). Ebenfalls findet sich eine signifikant verminderte Konzentration der AP der kontralateralen Organe im Vergleich zu Normalnieren (s. Tab. 1).
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)

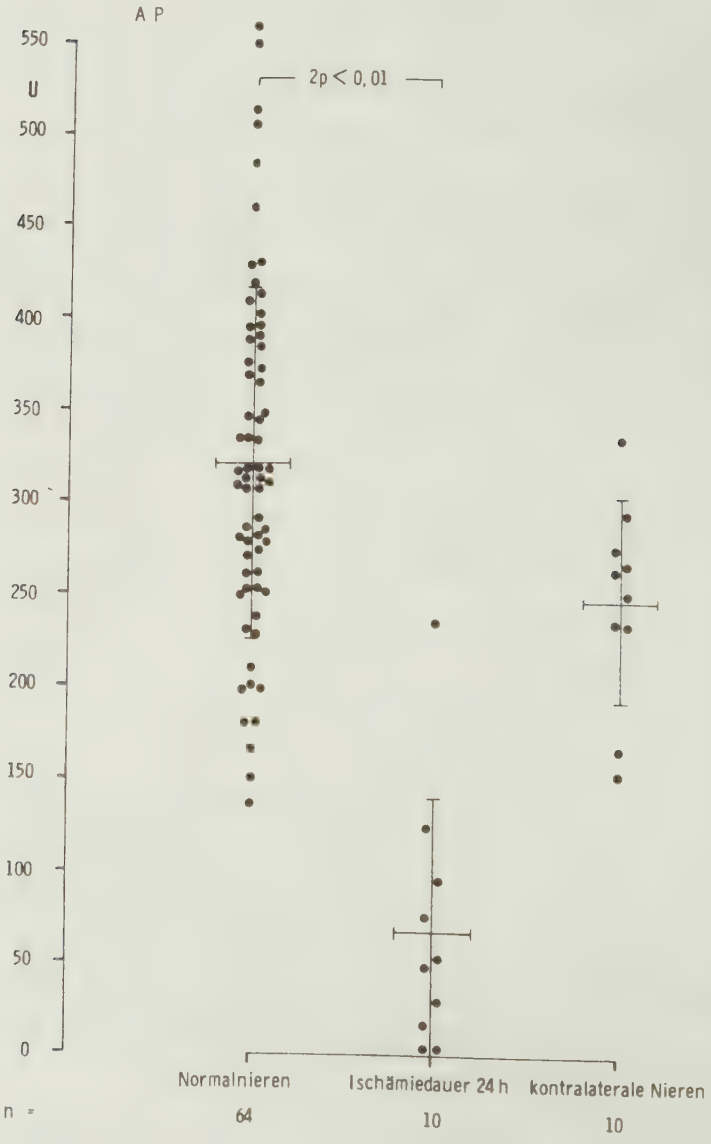
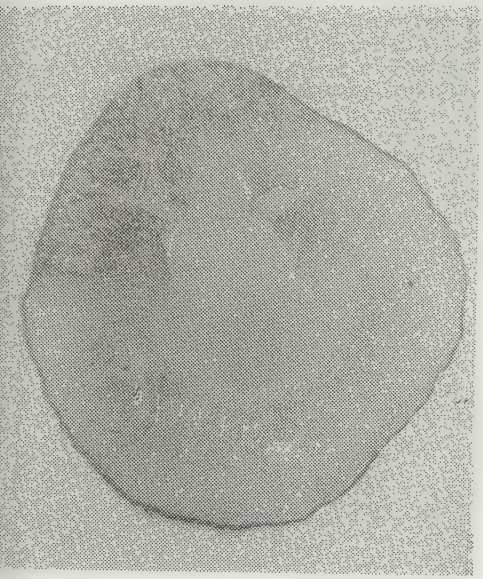
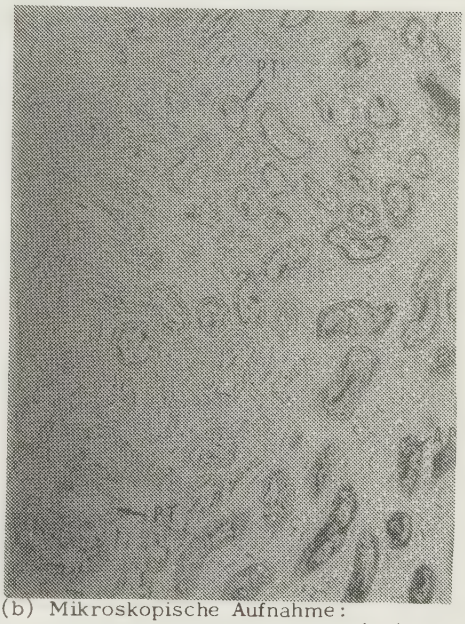


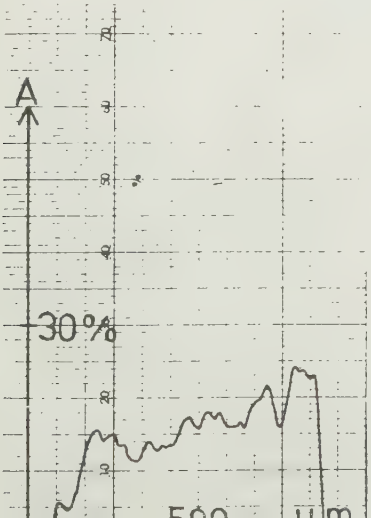
Abb. 18: Darstellung der AP im Schnitt einer Rattenniere nach einer Ligatur der Arteria renalis von 24 Stunden



) Makroskopische Aufnahme:
In einem großen Teil der Nierenrinde ist ein Enzymverlust schon makroskopisch in den proximalen Tubuli feststellbar; es ist noch in einigen proximalen Tubuli Enzymaktivität der AP vorhanden.
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
In vielen proximalen Tubuli (PT) ist ein Verlust der Enzymaktivität der AP nachweisbar, jedoch ist in einigen PT noch restliche Enzymaktivität sichtbar.
Vergrößerung: 1:160



(c) Histogramm eines Nierenrindengewebes nach 24-stündiger Arterienligatur:
Die gemessene Absorption (A) sank auf Werte von weniger als 24 % in bezug auf die maximale Absorption pro Gesamtfläche.
Ordinate: Absorption (A)
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm

Abb. 19: Enzymaktivitäten der AAP im Nierenrindengewebe von Normalnieren, Organen nach 24-stündiger Ischämie bei Normothermie und in kontralateralen Organen. Es ist ein leichter Anstieg der Konzentration der AAP in geschädigten Nieren gegenüber der Kontrollgruppe zu verzeichnen sowie eine signifikante Zunahme in den kontralateralen Organen gegenüber den Normalnieren ($2\,p < 0{,}001$). Die Zunahme der AAP-Enzymaktivität in kontralateralen Organen war ebenfalls signifikant gegenüber Nieren nach 24-stündiger Ischämie durch Ligatur der Arteria renalis ($2\,p < 0{,}01$).
Ordinate: Enzymaktivitäten in Units (U)

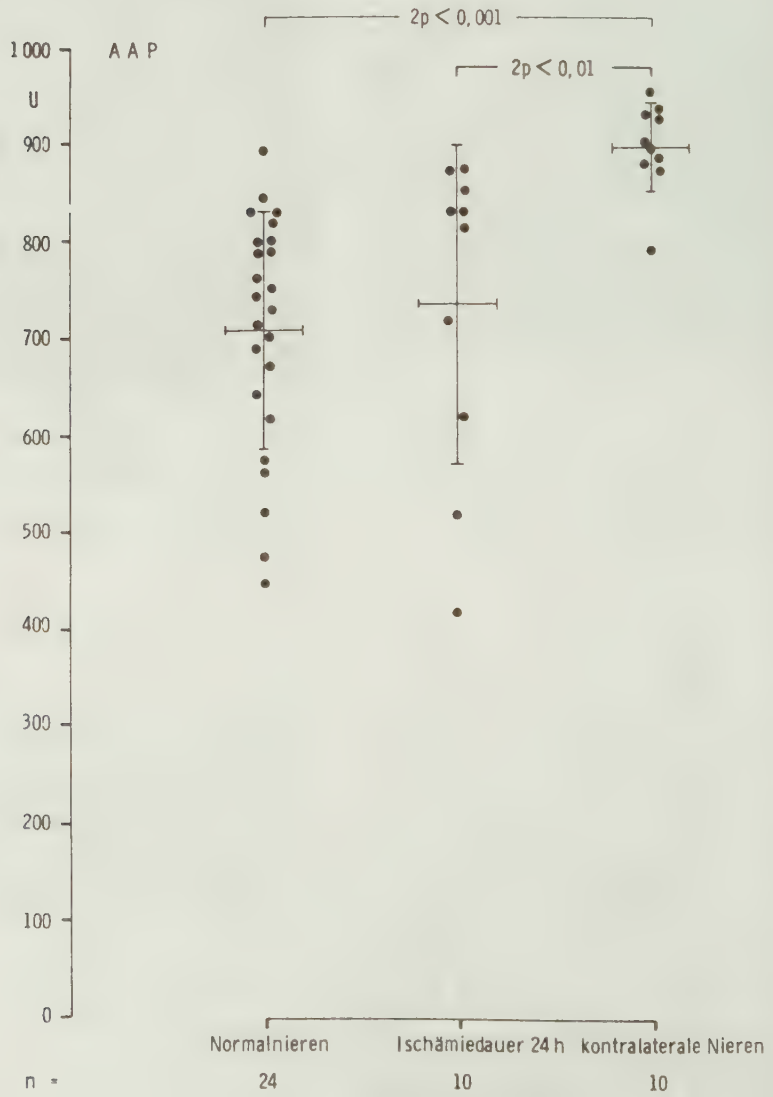
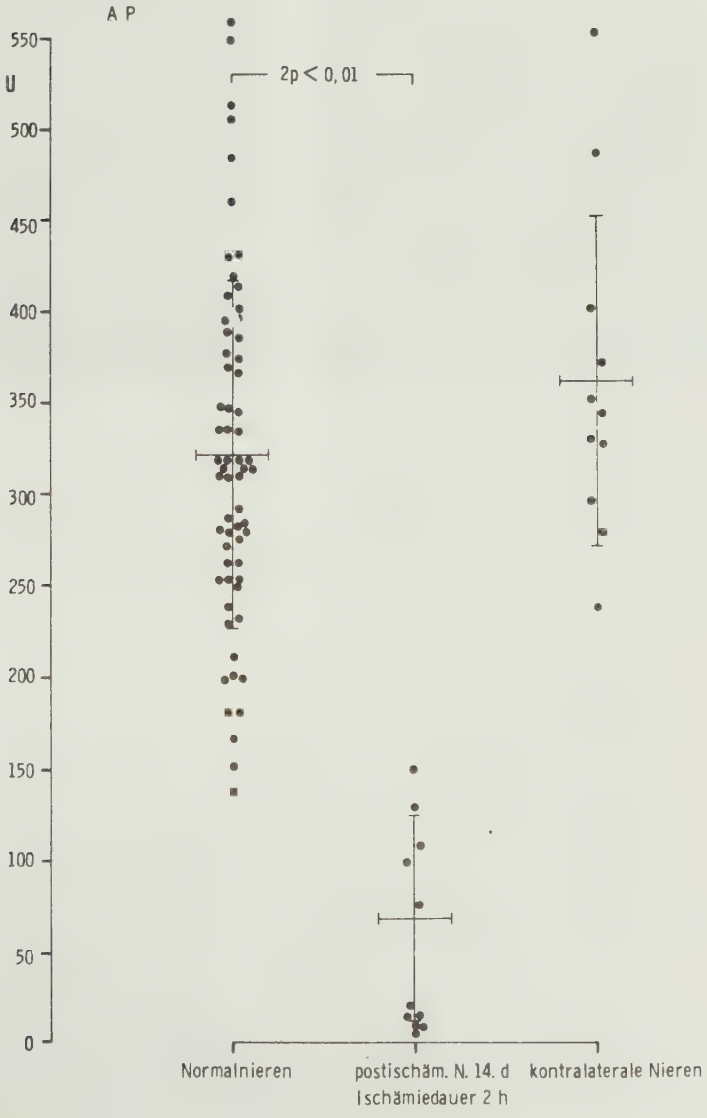
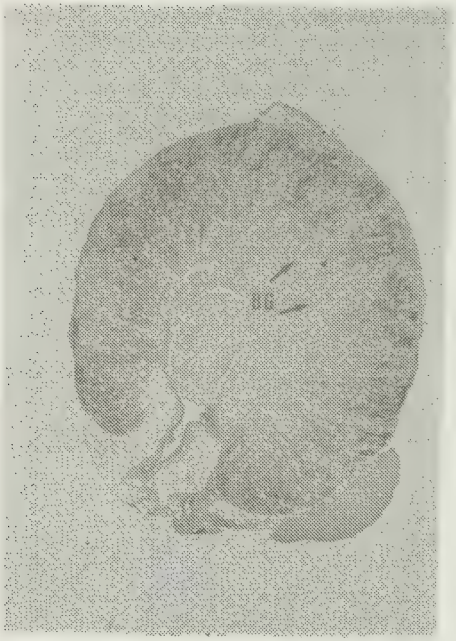


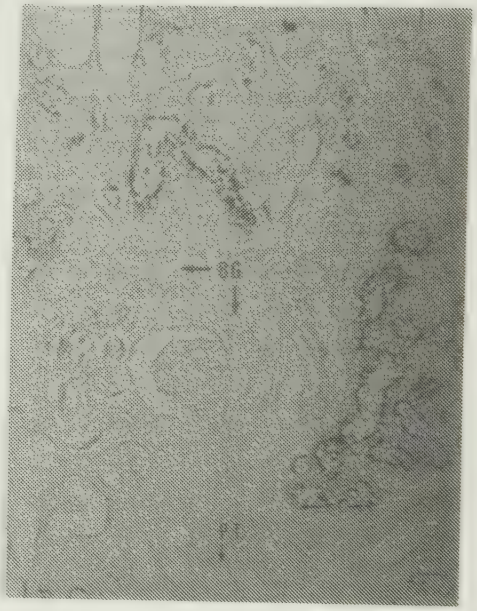
Abb. 20: Konzentrationen der alkalischen Phosphatase (AP) im Nierenrindengewebe von gesunden Organen, Nieren nach 2-stündiger unilateraler Ischämie und anschließender postischämischer Wiederdurchblutung von 14 Tagen und in kontralateralen Nieren. Es ist ein signifikanter Abfall der AP-Enzymaktivitäten ($2p < 0,01$) geschädigter Organe im Vergleich zu Normalnieren festzustellen sowie eine leichte Zunahme der Enzymaktivitäten in kontralateralen Organen gegenüber Normalnieren.
Ordinate: Enzymaktiviäten in Units (U)



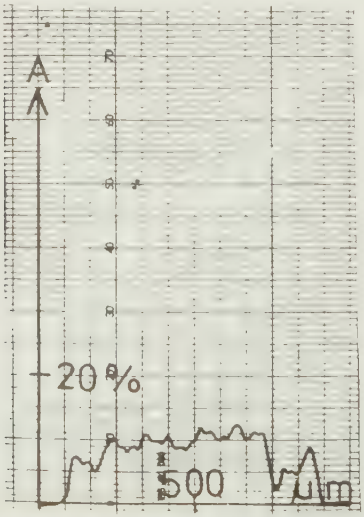
Arteria renalis für 2 Stunden mit anschließender Wiederdurchblutung für 14 Tage



(a) Makroskopische Aufnahme:
Das Nierenrindengewebe ist durch erhebliche Zunahme des Bindegewebes gekennzeichnet. Die Enzymkonzentration der AP in der Nierenrinde ist schon makroskopisch sichtbar vermindert, in bindegewebig (BG) alterierten Anrealen läßt sich erwartungsgemäß kein Enzym der AP mehr nachweisen.
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
Im Bild erkennbar sind deutliche Abnahmen der Enzymaktivitäten in vielen proximalen Tubuli (PT). Nur einige PT enthalten noch restliche Enzymkonzentrationen der AP. Auffallend ist eine gravierende Zunahme des Bindegewebes (BG) in der Nierenrinde.
Vergrößerung: 1:100



(c) Histogramm eines Nierenrindengewebes nach 2-stündiger Ligatur der Arteria renalis mit anschließender 14-tägiger Wiederdurchblutung:
Der Verminderung der Enzymkonzentration entspricht eine Abnahme der Absorption (A). Einer Abnahme der alkalischen Phosphatasekonzentration entsprechend, ließen sich Werte von weniger als 12 % der noch vorhandenen Enzymaktivität in bezug auf die Gesamtabsorption der Meßfläche analysieren.
Abszisse: 1000 µm
Ordinate: Absorption (A)

Abb. 22: Konzentrationen der AAP in gesunden Nieren, Organen, die einer unilateralen 2-stündigen Ischämie ausgesetzt waren und postischämisch 14 Tage wieder durchblutet wurden und in den dazugehörigen kontralateralen Nieren. Die Abnahme der Enzymaktivität bei der Versuchsgruppe ist signifikant ($2\,p < 0{,}01$) gegenüber der Kontrollgruppe. Signifikant ist auch die Zunahme der Enzymkonzentration der AAP in den kontralateralen Organen ($2\,p < 0{,}0001$) gegenüber Normalnieren (s. Tab. 2 und Abb. 23).
Ordinate: Enzymkonzentration der AAP in Units (U)

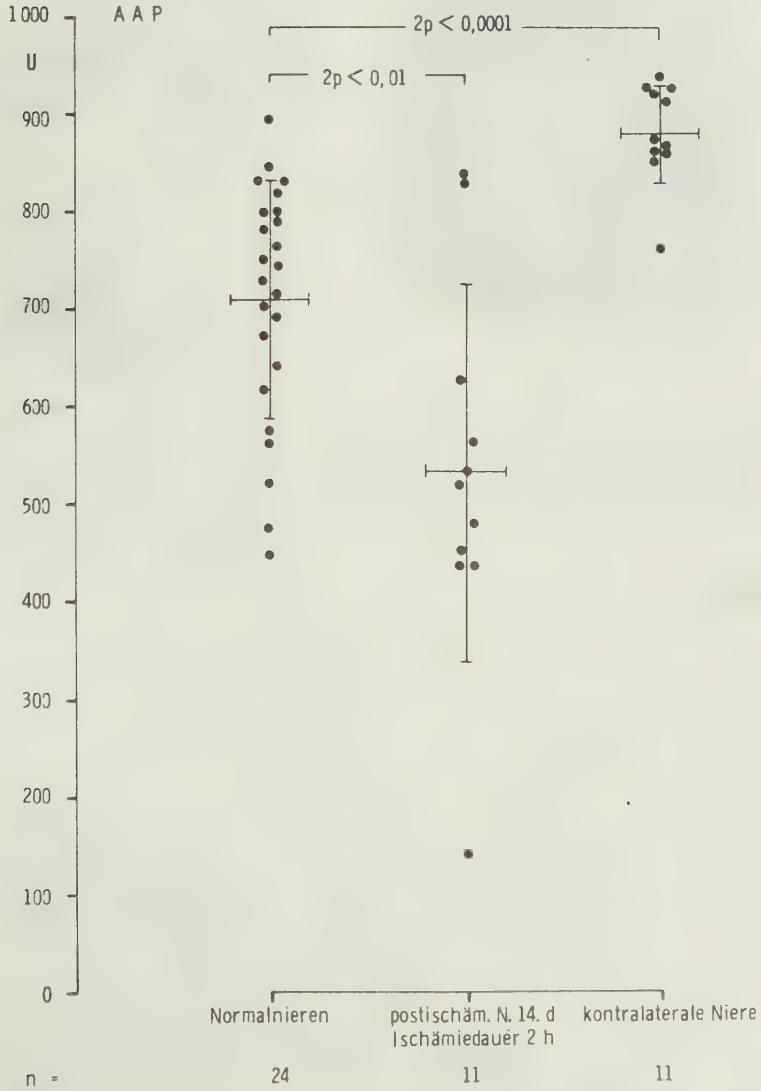
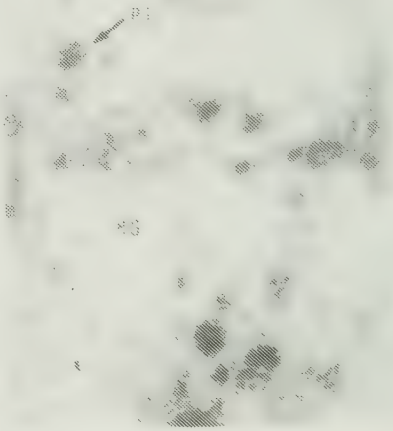
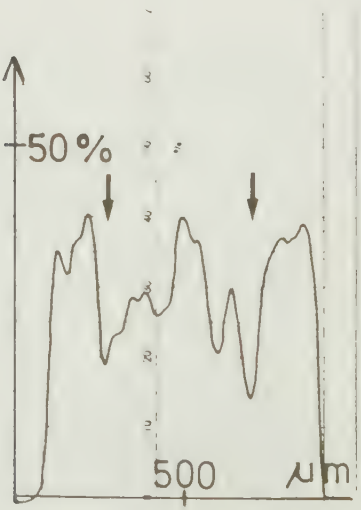


Abb. 23: Darstellung der AAP im Gewebsschnitt einer Rattenniere nach 2-stündiger Arterienligatur und anschließender 14-tägiger Wiederdurchblutung

(a) Makroskopische Aufnahme:
Die Verminderung der Enzymkonzentration der AAP ist deutlich sichtbar; das Nierenrindengewebe ist weitgehend durch Bindegewebe (BG) ersetzt.
Vergrößerung: 1:10



(b) Mikroskopische Aufnahme:
Es ist ein Verlust der Enzymaktivitäten der AAP in vielen proximalen Tubuli (PT) zu erkennen. Einige Tubuli enthalten noch restliche AAP-Konzentrationen. Auch in diesem Bild ist die Zunahme des Bindegewebes (BG) auffallend.
Vergrößerung: 1:100



(c) Histogramm des Cortexgewebes einer Rattenniere nach 2-stündiger Arterienligatur mit anschließender 14-tägiger postischämischer Wiederdurchblutung:
Der Verlust der Enzymaktivität entspricht einer Verminderung der Absorption (A) auf Werte von weniger als 40 % in bezug auf die Gesamtabsorption.
Ordinate: Absorption (A) in %
Abszisse: Meßstrecke 1000 µm

Tab. 3: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Nierengewichte von Kontrollorganen, Nieren nach Ureterligatur von 10 und 21 Tagen, Ischämie von 2 und 24 Stunden sowie nach Ligatur der Vena renalis von 48 Stunden (n.s.: nicht signifikant)

Gruppe	Anzahl d.Nieren	Art der Schädigung	Zeit	Enzymkonzentration in Units Mittelwerte ± Standardabweichg.	Signifikanz 2 p
1 a	12	Ureterobstruktion	10 d	1,32±0,35	< 0,05
b	12	kontralat. Nieren		1,01±0,17	n.s.
2 a	6	Ureterobstruktion	21 d	1,86±0,43	< 0,01
b	6	kontralat. Nieren		1,22±0,06	n.s.
3 a	10	Ischämie	2 h	1,42±0,33	< 0,05
b	10	kontralat.Nieren		1,01±0,08	n.s.
4 a	10	Ischämie	24 h	2,27±0,2	< 0,001
b	10	kontralat.Nieren		1,34±0,06	< 0,01
5 a	11	Ischämie mit postischämischer Wiederdurchblutung	2 h + 14 d	1,05±0,2	n.s.
b	11	kontralat.Nieren		1,26±0,2	< 0,05
6 a	10	Ligatur der Vena renalis	48 h	3,72±0,41	< 0,001
b	10	kontralat.Nieren		1,45±0,08	< 0,001
7	16	Kontrollnieren		0,9 ±0,45	-

Abb. 24: Diagramm der mit einer Torsionsbalancewaage gewogenen Nierengewichte von Kontrollorganen, Nieren nach 10-tägiger Ureterligatur und den dazugehörigen kontralateralen Organen. Der Anstieg der Gewichte geschädigter Nieren ist signifikant ($p < 0,05$). Die Gewichte der kontralateralen Organe nahmen nicht signifikant gegenüber Normalnieren zu.
Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)

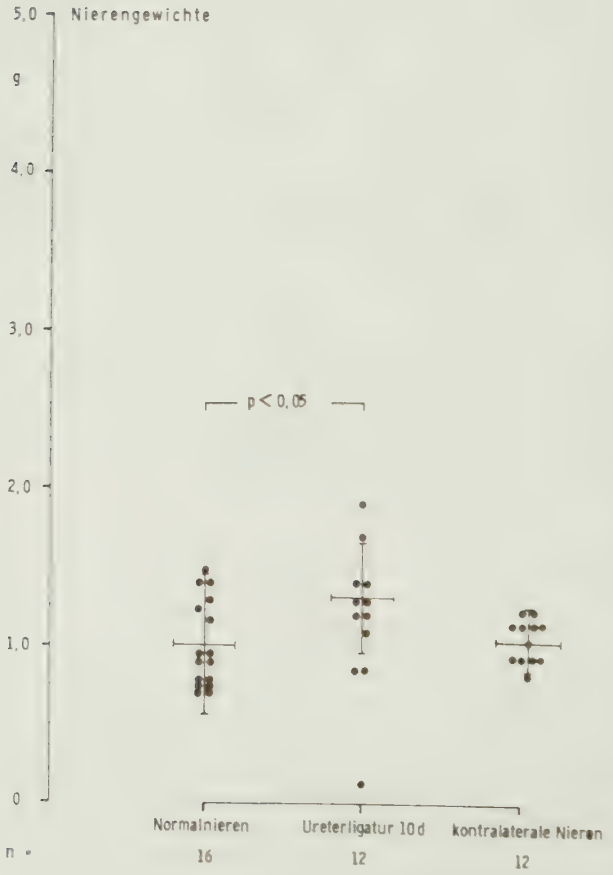
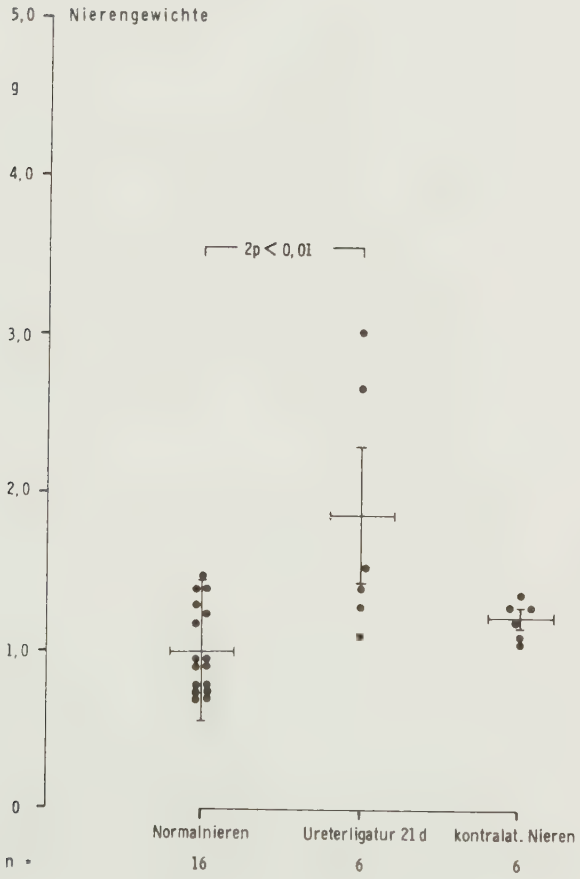


Abb. 25: Diagramm der Gewichte von Normalnieren, Organen nach 21-tägiger Ureterligatur und den kontralateralen Nieren. Das Gewicht der alterierten Nieren stieg gegenüber der Kontrollgruppe signifikant an ($2p < 0,01$). Eine nicht signifikante Gewichtszunahme fand sich bei kontralateralen Nieren nach 21-tägiger Ureterligatur gegenüber Normalnieren. Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)



Die Nieren dieser Gruppen nach 10- und 21-tägiger Ureterligatur waren ebenfalls gegenüber Kontrollen signifikant ($2p < 0{,}05$ und $2p < 0{,}01$) schwerer. Die kontralateralen, nicht hydronephrotisch alterierten Nieren vermehrten ihr Gewicht nach 10-tägiger Ligatur (112 %) und deutlich stärker nach 21-tägiger Ligatur (135 %). Jedoch erwies sich die Zunahme der Gewichte in Gruppe 1b und 2b nicht als signifikant (s. Abb. 24 und 25).

Eine starke livide Schwellung wurde bei Nieren nach 2-tägiger Ligatur der Vena renalis beobachtet. Wie erwartet werden konnte, korrelierte eine erhebliche Größenzunahme der Nieren mit einer Vermehrung des Gewichtes, das im Durchschnitt mehr als 4-mal so groß war wie das Gewicht der Kontrollnieren ($2p < 0{,}001$). Es fand sich auch eine Zunahme des Gewichtes der kontralateralen Nieren dieser Versuchsgruppe auf 160 % ($2p < 0{,}001$) bezogen auf Kontrollrattennieren (s. Abb. 26).

Nach normothermer Ischämie von 2 und 24 Stunden ohne Rezirkulation stieg das Gewicht der Nieren gegenüber Kontrollorganen signifikant an (s. Abb. 27 und 28).

Die kontralateralen unbehandelten Nieren nach 24-stündiger Arterienligatur waren signifikant schwerer als Kontrollen (s. Abb. 28).

Nieren nach einer 2-stündigen Ligatur und 14 Tagen postischämischer Wiederdurchblutung zeigten eine geringfügige Zunahme des Organgewichtes, die jedoch nicht signifikant war. Jedoch wiesen auch in dieser Versuchsgruppe die kontralateralen Nieren eine signifikante Gewichtszunahme auf (s. Tab. 3 und Abb. 29).

(Text weiter S. 48)

Abb. 26: Diagramm der Nierengewichte von Kontrollorganen, Nieren nach 2-tägiger Ligatur der Vena renalis und der kontralateralen Nieren. Die Gewichtszunahme der alterierten Nieren ist signifikant (2 $p<0,001$) gegenüber den Normalnieren, ebenfalls signifikant ist der Anstieg der kontralateralen Organgewichte (2 $p < 0,001$) gegenüber den Kontrollnieren.
Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)

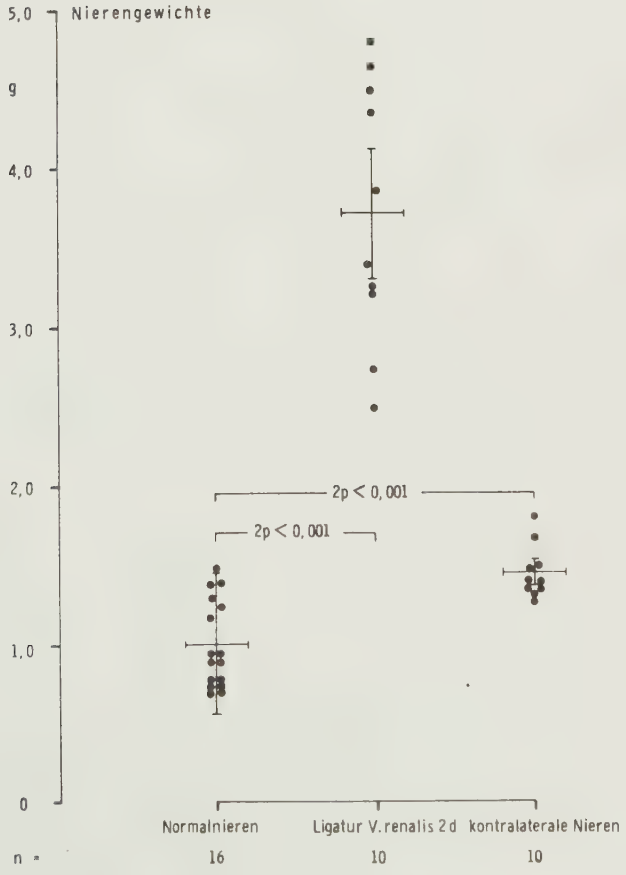


Abb. 27: Diagramm der Nierengewichte von Normalnieren, Organen nach 2-stündiger normothermer Ischämie und der kontralateralen Nieren. Signifikant ($2p < 0,05$) ist die Zunahme der ischämisch geschädigten Organgewichte gegenüber Normalnieren, während die kontralateralen Nieren nur eine geringfügige nicht signifikante Zunahme der Gewichte aufwiesen. Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)

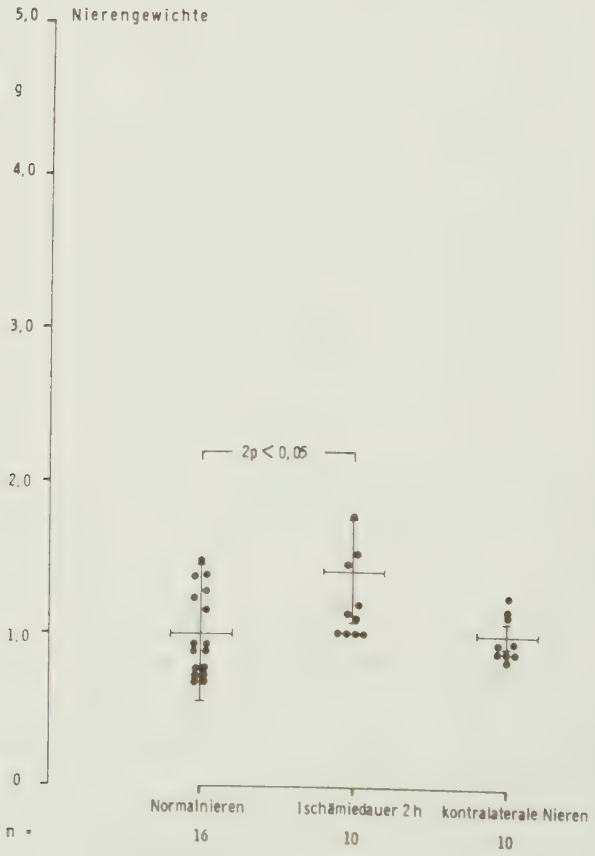


Abb. 28: Diagramm der Organgewichte von Normalnieren, Nieren nach einer 24-stündigen normothermen Ischämie, hervorgerufen durch Arterienligatur und der kontralateralen Organe. Signifikant ist sowohl der Anstieg der Organgewichte der geschädigten ($2p < 0{,}001$) als auch der kontralateralen Nieren ($2p < 0{,}01$) gegenüber Normalnieren.
Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)

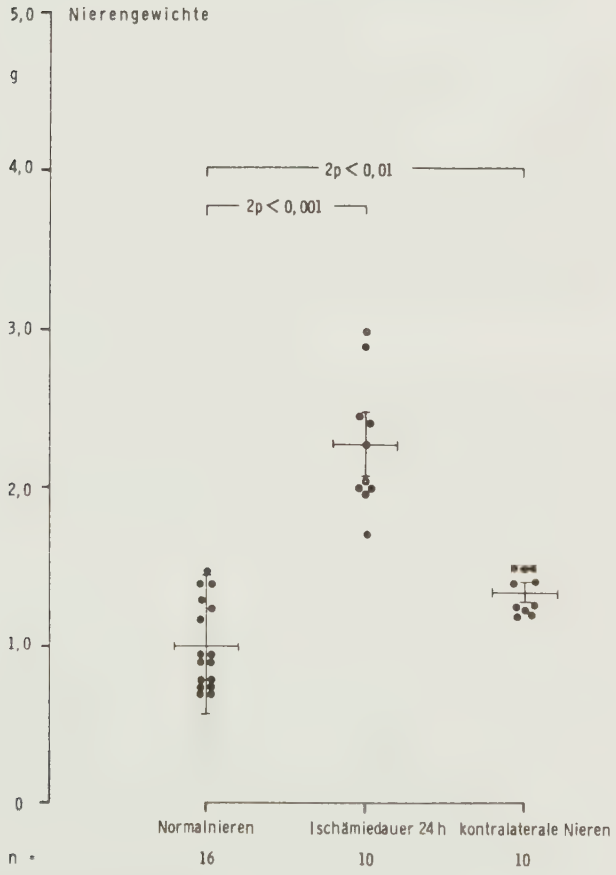
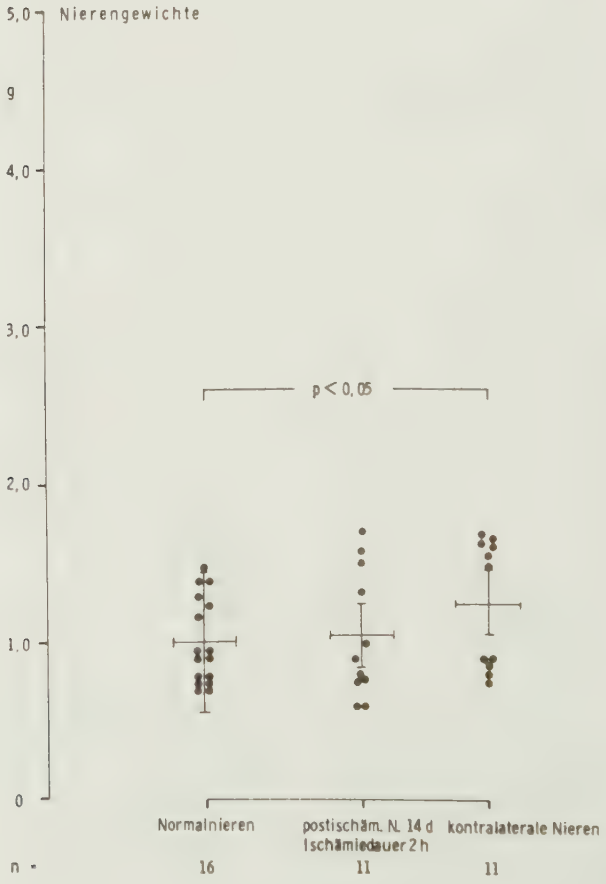


Abb. 29: Diagramm der Gewichte von Normalnieren, Organen nach 2-stündiger normothermer Ischämie, hervorgerufen durch Abklemmung der Arteria renalis, und anschließender 14-tägiger postischämischer Wiederdurchblutung sowie der kontralateralen Nieren. Die Gewichte der ischämisch alterierten Nieren zeigen nur einen geringen nicht signifikanten Anstieg gegenüber Kontrollnieren, der auf eine vermehrte Bindegewebseinlagerung zurückzuführen sein dürfte. Die Gewichte der kontralateralen Organe stiegen als Zeichen von stattgefundenen Kompensationsmechanismen signifikant ($p < 0,05$) an.
Ordinate: Nierengewichte in Gramm (g)



4. Diskussion

Die Plasmamembran des Bürstensaumes in Nierengeweben ist hoch spezialisiert: es findet der aktive Transport einer Zahl von Metaboliten statt wie Aminosäuren, Peptide, Glucose, Natrium, Phosphat und einigen anderen Stoffen; außerdem nimmt sie teil an hormonellen Regulationen. Diese Membranen enthalten eine Anzahl von Enzymen, z.B. Hydrolasen: Aminopeptidasen, Phosphatasen, Disaccharidasen und Glutamyltranspeptidasen (21, 30, 39, 42, 60). In dieser Arbeit wurden die Aktivitäten der AP und AAP als Indikatorenzyme in Rattennieren untersucht. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß die AP als ein innerer Bestandteil der Plasmamembran im proximalen Tubulus der normalen Niere bezeichnet werden kann, während die AAP für einen oberflächlichen Bestandteil der Plasmamembran gehalten wird (2, 21, 54).

Schon frühzeitig nach Schädigungen der Niere, wie Ischämie und Ureterobstruktion können Alterationen im Bereich des proximalen Tubulus der Niere beobachtet werden. Venkatachalam et al. (59) beschrieb drei aufeinanderfolgende Segmente, die sich im proximalen Tubulus der Rattenniere finden. Jedes ist durch einen eigenen Zelltypus charakterisiert. Der proximale gewundene Teil des Tubulus (PCT) enthält das erste Segment (S_1) und den größten Teil des zweiten Segmentes (S_2). Ein scharfer Übergang zum dritten Segment findet sich im geraden Teil des proximalen Tubulus (PST). Diese Autoren beschrieben eine unterschiedliche Empfindlichkeit auf eine Schädigung zwischen PCT und PST. Die Epithelzellen in PST reagierten empfindlicher z.B. auf Ischämie, Quecksilberchlorid und Ethionin, während Chromat selektiv den proximalen gewundenen Teil des Tubulus schädigte. Die Untersuchungen zeigten, daß S_3-Zellen selektiv empfindlich reagieren auf eine ischämische Schädigung. Eine leichte Ischämie verursacht eine Auslöschung der Mikrovilli

des Bürstensaumes in den reversibel geschädigten S_1- und S_2-Zellen und damit verbunden einen Defekt der proximalen Natriumreabsorption. Die Untersuchungen zeigten eine Spezifität der pathologischen Antwort auf Ischämie in den definierten Zelltypen des proximalen Tubulus. Ausschließlich S_3-Zellen zeigten einen irreversiblen Schaden nach 25 Minuten Ischämie. Die proximalen geraden Segmente reagierten vulnerabler auf Ischämie als die gewundenen Segmente. Auch die hier durchgeführten Untersuchungen wiesen eine starke Empfindlichkeit besonders der S_3-, aber auch der S_1- und S_2-Zellen auf ischämische Schädigungen auf. Diese konnten nach Ischämie und Wiederdurchblutung durch eine signifikante Abnahme der in diesen Zellabschnitten vorhandenen Markerenzyme AP und A AP histophotometrisch analysiert werden (s.S. 16 und 17. Tab. 1 und 2).

Die in dieser Arbeit an Rattennieren unternommenen Versuche, in denen die Arteria renalis abgeklemmt wurde, stimmen mit Ergebnissen anderer Autoren überein, in denen eine enzymhistochemische morphologische und funktionelle Veränderung in der Niere, die einer Ischamie ausgesetzt war, stattfand. Robinson et al. (50) stellten fest, daß bereits nach einstundiger Ischämie eine Erweiterung des Tubuluslumens sowie eine leichte Verbreiterung des Interzellulärsaumes zwischen den Tubuluszellen auftrat. Weiterhin zeigte sich, daß nach 2 Stunden Ischamie der Schaden fortschritt und bereits nach 3 Stunden Ischämie sich einige Zellen von der Basalmembran lösten. In derselben Untersuchung wurde mit biochemischen und histochemischen Methoden aufgezeigt, daß die Quantität der Zellenzyme Saure Phosphatase und Paraaminohippursäure sich verminderte. Beobachtungen, die bereits bei früheren ischämischen Schäden gemacht wurden, bestätigten, daß ein irreversibler Schaden verursacht sein kann, ohne sofortige strukturelle und funktionelle Alterationen.

Weiterhin stimmen die Ergebnisse dieser Arbeit mit früheren histochemischen Untersuchungen überein, in denen eine leichte Abnahme der AP-Konzentration in der Nierenrinde verbunden sein kann mit noch völlig normalen

lichtmikroskopisch histologischen Strukturen der Epithelzellen des proximalen Tubulus (56). In einigen Fällen, bei denen kein oder nur ein geringer Schaden beobachtet werden konnte, wurden bereits signifikante histochemische Veränderungen quantitativ gemessen. In der vorliegenden Arbeit wiesen die Nieren, die einer normothermen Ischämie von 2 Stunden ausgesetzt waren, leichte histologische Strukturveränderungen auf. Bemerkenswert war der Anstieg bzw. die Verminderung der histophotometrisch gemessenen Enzymkonzentrationen, der in geschädigten als auch in kontralateralen unligierten Nierengewebsschnitten beobachtet werden konnte. Noch eindrucksvoller waren die Alterationen, die nach einer Arterienligatur von 24 Stunden dokumentiert werden konnten (s. Abb. 17, 18 und 19).

Nach einer Ischämie von 2 Stunden (113 %) und von 24 Stunden (103 %) wurde eine höhere Absorption der AAP-Aktivität der alterierten Nieren registriert. Der Anstieg der hier gemessenen Enzymkonzentration der AAP in den Gruppen der Rattennieren ohne nachfolgende Wiederdurchblutungsphase mag sich auf eine initiale Enzyminduktion gründen und einer anwachsenden Rate der Proteinsynthese und/oder auf einen Abfall der Verlustrate (10). Im Gegensatz dazu zeigte die AP-Konzentration in der gleichen ischämischen Periode von 2 Stunden (85 %) und 24 Stunden (22 %) eine Verminderung im Vergleich zu normalem Nierengewebe (100 %) (s.S. 16 und 17, Tab. 1 und 2, S. 29, Abb. 14 sowie S. 33, Abb. 17). Auch in kontralateralen Nieren nach 2 und 24 Stunden Ischämie sowie auch in der Gruppe nach 2 Stunden normothermer Ischämie mit anschließender Wiederdurchblutung von 14 Tagen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der AAP-Aktivität ($p < 0{,}001$), der durch kompensatorische Mechanismen erklärt werden kann (s.S. 16 und 17, Tab. 1 und 2).

Wie andere Autoren berichteten (28, 29, 47, 48), folgte der anfänglichen Unversehrtheit der Struktur nach einstündiger Ischämie bei der Ratte eine rapide Verschlechterung nach Wiederdurchblutung mit weitgehend herabgesetzter Funktion und großem strukturellen Schaden bei Ratten und

Hunden. Unilaterale normotherme Ischämie von 2 Stunden mit einer nachfolgenden Wiederdurchblutung von 14 Tagen zeigte eine Verminderung der AAP-Aktivitäten (< 77 %) und auch der AP-Konzentration (< 22 %) im Vergleich zu Normalnieren (s.S. 36, Abb. 20 und S. 38 Abb. 22). Dies hat darin seine Ursache, daß es zu einer qualitativen und quantitativen Verminderung der Enzymkonzentration in den einzelnen Tubuli aufgrund des ischämischen Schadens sowie einer Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes kommt.

Weiterhin wurde von anderen Autoren berichtet, daß Hundenieren, die einer 2-stündigen Ischämie ausgesetzt waren, kaum mehr fähig sind, die Nierenfunktion soweit aufrechtzuerhalten, um das Tier nach kontralateraler Nephrektomie am Leben zu erhalten (50).
Übereinstimmend mit dieser Arbeit waren die Organgewichte von Nieren, die durch Ligatur der Arteria renalis geschädigt wurden, signifikant höher bei den Nieren nach 2-stündiger Ischämie (>150 %) und nach 24-stündiger Ischämie (> 250 %). Die Gewichte der Nieren, die einer 2-stündigen Ischämie ausgesetzt waren mit anschließender 14-tagiger Wiederdurchblutung, waren leicht angestiegen (>115 %).

Im Vergleich zur Hydronephrose menschlicher Nieren mag die Tatsache, daß Rattennieren eine signifikante Abnahme von Enzymkonzentrationen nach Ureterobstruktion aufweisen, einen Zustand von verminderter Enzymaktivität zeigen. Schubert et al. (57) fand, daß eine Verminderung der enzymhistochemischen Aktivität korreliert mit einer irreversiblen Störung der Nierenfunktion, die sich einige Tage nach einer Obstruktion manifestiert. Frühere Untersucher beschrieben, daß der renale Blutfluß, der in obstruierten Nieren vermindert gefunden wurde, einen Kausalfaktor für die Nierenschädigung darstellte (57). Die Enzymkonzentrationen der AP und AAP hatten nach einer 10 und 21 Tage andauernden Zeit

einer Hydronephrose, durch Ureterobstruktion bedingt, signifikant abgenommen. Nach Ureterobstruktion von 10 Tagen zeigte sich mikroskopisch, daß eine starke Weitstellung der Tubuli vorlag. Die Enzymaktiviäten der AP und AAP waren qualitativ und quantitativ signifikant vermindert. Dabei war jedoch die signifikante Verminderung der Enzyme in benachbarten Arealen unterschiedlich stark ausgeprägt. Nach einer Ureterobstruktion von 21 Tagen zeigte sich, daß auch hier eine erhebliche Weitstellung der Tubuli vorlag, daneben fanden sich auch atrophische Tubuli, und der bindegewebige interstitielle Ersatz hatte noch erheblich zugenommen. Die Enzymaktivitäten der AP und AAP waren deutlich gegenüber Kontrollnieren, aber auch gegenüber den Nieren, die durch 10-tägige Ureterobstruktion geschädigt waren, vermindert. In den nichtligierten kontralateralen Nieren wurde ein Anstieg der AAP-Konzentration festgestellt, der durch vermehrte kompensatorische Proteinaktivität interpretiert werden kann.

Das vermehrte Gewicht der hydronephrotischen Nieren, das nach Inzision des dilatierten Nierenbeckens beobachtet wurde, dürfte in der Hauptsache auf eine Flüssigkeitsansammlung in den geschwollenen Tubulusepithelzellen und eine Hypertrophie in den distalen Nephronanteilen zurückzuführen sein (s.S. 41, 42, Abb. 24, 25).

In den Nierenrindengeweben nach einer 2 Tage andauernden Ligatur der Vena renalis wurde mikroskopisch eine Zellschwellung beobachtet. Die Enzymkonzentration war vermindert, sowohl für die AAP (< 83 %) als auch für die AP (< 43 %). Der arterielle Zufluß war hier noch vorhanden. Die Organgewichte waren auf den vierfachen Wert angestiegen (s.S. 44, Abb. 26).

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß die Epithelzellen des proximalen Tubulus signifikant geringere Konzentrationen der Schlüsselenzyme AP und AAP aufweisen unter pathologischen Bedingungen mit Schädigungen wie Hydronephrose nach Ureterligatur von 10 und 21 Tagen, Ischämien von

2 und 24 Stunden Dauer sowie Ligatur der Vena renalis für 2 Tage. Nierenstielabklemmungen von einer Zeitdauer bis zu 2 Stunden sind in der Klinik der Steinchirurgie und der Tumorchirurgie bei Solitärnieren notwendig. Nierenschäden, die das Tubulussystem betreffen, verursachen einen Zustand von verringerter Enzymaktivität im Nierenrindengewebe. Ein andauerndes Ungleichgewicht des tubulären Zellstoffwechsels führte zu einer verminderten Proteinsynthese mit einem Verlust der Enzymkonzentration. Das drückte sich in der Tatsache aus, daß eine verminderte Enzymaktivität verbunden war mit reduzierten Markersignalen in den Histogrammen. Außerdem führte die Permeabilitätsänderung und die Exkretion von tubulären Epithelzellen zu einer zunehmenden Freisetzung von Indikatorenzymen und Proteinen im Urin, wie in früheren Untersuchungen nachgewiesen wurde (30, 39, 42, 55). Wie Heinert et al. feststellten, gingen Nierenschädigungen, z.B. durch chronische Abstoßungsreaktionen verursacht mit einem signifikanten Abfall der Enzymkonzentrationen und einer morphologischen Schrumpfung der Tubulusepithelzellen einher (16, 17, 18).

Wie zu erwarten, sind Nieren mit einer schweren tubulären Schädigung nicht imstande, Enzyme in zunehmendem Maße auszuscheiden, entsprechend dem Finalstadium der Proteinsynthese und der funktionellen Insuffizienz.

In der vorliegenden Arbeit wurde als methodisches Hilfsmittel die Technik der computer-assistierten Histophotometrie angewandt (s.S. 9). Sie ermöglicht es, die enzymatisch präparierten Gewebestücke nicht nur morphologisch, sondern auch quantitativ zu beurteilen. Zusätzlich werden statistische Berechnungen ermöglicht.

Herkömmliche Auswertung von Gewebemustern wurden optimiert durch Verwendung eines elektronischen Hochfrequenz-Bildanalysators. Nach enzymatischer Behandlung des Nierengewebes wurde die Bildfläche photome-

trisch ausgewertet.Bereits Wachsmuth u. Stoye (61,62 u.a.)wiesen auf die Möglichkeit computer-assistierter enzymhistophotometrischer Analysen hin.

Für eine genaue und optimale Diagnose benötigt der Untersucher Informationen über Lokalisation, Grad und Progredienz des fibrotischen Gewebewachstums, Tendenz und Stand der Organschädigung, Grad der Zellschädigungen und der entzündlichen Reaktionen. Kenntnisse über Ätiologie, Pathogenese und Morphogenese sind in vielen Fällen von Wichtigkeit für die Analyse. Deshalb wurde eine objektive und reproduzierbare Methode der Lichtphotometrie benutzt, um enzymatisch gefärbtes Nierengewebe in wenigen Sekunden zu analysieren. Der Gebrauch einer computer-gesteuerten optischen Meßmethode kann es jedem Untersucher ermöglichen, vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Wir verwenden die empfindlichen Markerenzyme AP und AAP, um in einer "early phase" Alterationen im Nierengewebe zu analysieren. Mit histophotometrischen Messungen war es möglich, ausführlichere qualitative und quantitative Informationen über das Ausmaß der Gewebsschädigung zu erhalten. Die quantitative computerassistierte Histophotometrie enzymatisch angefärbter Nierengewebe stellt somit eine wertvolle Hilfe dar zur Beurteilung der Diagnose und Prognose experimentell induzierter und klinisch vorkommender Nierengewebsschädigungen.

5. Zusammenfassung

Als Markerenzyme des proximalen Tubulus der Nierenrinde können bei der Ratte die alkalische Phosphatase (AP) und die Alanin-Aminopeptidase (AAP) angesehen werden. Gesunde Rattennierengewebe zeigen eine gleichmäßige homogene Verteilung von Chromogenen, einer hohen Enzymaktivität der membrangebenden AP und AAP entsprechend (s.S. 14 und 15, Abb. 2 und 3).

Untersuchungen in ischämisch geschädigten Nieren, Nieren nach Ureterobstruktion und Nieren nach 2-tägiger venöser Stauung zeigten eine signifikante Abnahme der Indikatorenzyme AP und AAP (s.S. 16 und 17, Tab. 1 und 2).

Stärker war die Abnahme der AP und AAP in Rattennieren nach 21-tägiger Ureterligatur im Gegensatz zu Rattennieren nach 10-tägiger Ureterligatur (s. S. 18-24, Abb. 4-10).

In kontralateralen Nieren wurden nach unilateraler Ischämie von 24 Stunden und Ischämie von 2 Stunden mit anschließender 14-tägiger Wiederdurchblutung erhöhte Aktivitäten der AAP gemessen (s.S. 16 und 17, Tab. 1 und 2). Diese Erhöhung ist einer Enzyminduktion bzw. kompensatorischen Effekten zuzuschreiben. Mit einer computer-assistierten Bildanalyse gelingt es innerhalb kürzester Zeit, mit einer objektivierbaren und reproduzierbaren Methode den morphologischen und metabolischen Status einer Niere zu analysieren.

6. Literaturverzeichnis

1. Arnold, M.: Histochemie, Berlin, Springer-Verlag 1968.

2. Bargmann,W.: Niere und ableitende Harnwege, ein Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, vol. VII/5. Springer, Berlin 1978.

3. Beier, L., Beier, I., Haschen, R.J.: Isoenzyme der Alaninaminopeptidase als spezifische Parameter in der Diagnostik von Erkrankungen der Gallenwege und des Pankreas, Clin. Chim. Acta 24: S. 405-410, 1969.

4. Bergmann, H., Estrich, S., Scheler, F., Schmidt, M.: Die Leucin-Aminopeptidase im Harn, ein "nierenspezifisches" Enzym? Ärztl. Lab. 9: S. 255-260, 1963.

5. Bergmann, H., Truss, F.: Harnenzyme als Indikator tubulärer Nierenschäden, Med. Welt 34: S. 1760-1764, 1964.

6. Boehringer Mannheim GmbH: LAP, Bestimmung der Aktivität der Leucinarylamidase in Serum und Urin, cat.no. 15952.

7. Burchard, U.: Alaninaminopeptidaseausscheidung mit dem Harn und osmotische Nephropathie, Z. Gesamte Inn. Med. 30: S. 65-68, 1975.

8. Burke, U., Heinert, G., Scherberich, J., Mondorf, W., Schröder, R., Weber, W.: Quantitative enzyme histograms (maltase, betaglucuronidase) of normal and diseased kidneys as monitered by image analysis device, Proc. Eur. Soc. Art. Org. 7: S. 230-234, 1980.

9. Gahm, J.: Eine optische Markiereinrichtung für die mikroskopische fernsehtechnische Bildanalyse, Microscop. Acta 79, 1, S. 55-68, 1977.

10. Gelehrter, T.D.: Enzyme induction, New Engl. Med. 294; S. 522-525, 1976.

11. Göggel, K.H., Creutzfeld, W., Murucas, J.: The behavior of leucine aminopeptidase and other enzymes in the blood serum in liver, biliary and pancreatic diseases, Dtsch. Med. Wochenschr. 85: S. 1756-1808, 1960.

12. Goldbarg, J.A., Rutenburg, A.M.: The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases, Cancer 11: S. 283-291, 1958.

13. Heinert, G., Rauh, W., Scherberich, J., Mondorf, W., Weber, W.: Quantitative enzymatic histophotometrie of morphologic alterations caused by urologically relevant tubular kidney damages using computed image analysis device technique, Urol. Int. 36: S. 178-193, 1981.

14. Heinert, G., Scherberich, J.E., Mondorf, A.W., Kleemann, B.: Enzyme histograms in normal and cancer tissue of kidneys by image analysis device, Dtsch.Krebs Ges. 2: S. 440-441, 1979.

15. Heinert, G., Scherberich, H.J., Mondorf, A.W., Weber, W.: Enzym histochem. Bildanalyse bei urologisch relevanten Nierenveränderungen, Verh. dt. Ges. Urol. 30: S. 317-320, 1978.

16. Heinert, G., Mondorf, W.: Quantitative enzymatic and immunologic histophotometry of diseased human kidney tissues using TV-camera and computer assisted image processing systems, Proc. 1st Intern.Symp. on Med.Imaging and Image Interpretation ISMIII '82, October 1932, S. 232-238, 1983.

17. Heinert, G., Scherberich, J.E., Mondorf, A.W., Jonas, D., Weber, W.: Immunchemischer Nachweis struktureller Veränderungen der Niere bei urologisch relevanten Nierenerkrankungen mit Hilfe der quantitativen Bildanalyse, Verh.dt. Ges. Urol. 31: S. 337-340, 1979.

18. Heinert, G., Schneider, J., Scherberich, J., Mondorf, W., Weber, W.: Ultrastructural and enzymatic analysis evaluating alterations of morphological structures in normal, perfused and transplanted human kidneys, Electron Microscopy 2: S. 312-313, 1980.

19. Horpacsy, G., Dutz, W., May, G., Zinsmeyer, J., Mebel, M.: Die differentialdiagnostische Bedeutung der Bestimmung der Alanin-Aminopeptidase-Aktivitäten im Harn nach der Nierentransplantation, Zschr. Urol. 66 : S. 365, 1973.

20. Jösch, W., Dubach, U.C.: Urin-Arylamidase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 5: S. 59-63, 1967.

21. John-Kenny, A., Booth, A.G.: Organization of the kidney proximal tubule plasma membrane, Biochem . Soc. Transact. 4: S. 1011-1917, 1976.

22. Jung, K., Scholz, D.: An optimized assay of alaninaminopeptidase activity in urine, Clin.Chem. 26: S. 1251-1254, 1980.

23. Kenny, A.J., George, S.G., Aparicio, S.G.R.: The localization of peptidases in microvilli from the brush border of the proximal renal tubule of the rubbit, Biochem. J. 115: S. 18, 1969.

24. Klaus, D.: Über Aminopeptidasen im menschlichen Organismus, 1. Mitteilung: Biochemische Eigenschaften von Aminopeptidasen in Körperflüssigkeiten und Formelementen des Blutes, Ärztl. Forsch. 15 : S. 548-553, 1961.

25. Klaus, D.: Über Aminopeptidasen im menschlichen Organismus, 3. Mitteilung: Herkunft und Elimination der Serum-Leucin-Aminopeptidase, Ärztl. Forsch. 16 : S. 18-23, 1962.

26. Kriz, W., Kaissling, B., Schiller, H., Taugner, R.: Morphologische Merkmale transport. Epithelien. Klin. Wochenschr. 57: S. 967-975, 1979.

27. Lojda, Z., Gossrau, R., Schiebler, T.H.: Enzymhistochemische Methoden, Springer, Berlin 1976.

28. Mirkovitch, V., Borgland, J., Robinson, J.W.L.: The response of the dog kidney to transplant rejektion of ischemia: an experimental and comparative study with functional microcirculatory and enzymological investigations, Res. exp. Med. 159: S. 1-22, 1972.

29. Mirkovitch, W., Robinson, J.W.L., Gomber, S., Fischer, A., Winistörfer, B., Veuron, J.: Influence of short-term hypothermia upon the normal or ischemic dog kidney, Cy to biology. 13: S. 168-176, 1976.

30. Mondorf, W., Kinne, R., Scherberich, J., Falkenberg, F.: Isolierung, enzymatische und immunologische Charakterisierung einer Plasmamembranfunktion am proximalen Tubulus der menschlichen Nieren, Clinica Chim. Acta 37: S. 25-32, 1972.

31. Mondorf, W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E., Merrill, J.P.: Specific tubular histuria following renal transplantation, Protides Biol. Fluids (edt. H. Peeters) 21: S. 493-495, 1973.

32. Mondorf, W.: Die Bedeutung lokalisationsspezifischer Enzyme im Harn für toxikologische und klinisch-pharmakologische Untersuchungen, Arzneimittelforsch. (Dry.Res.) 23: S. 1634-1637, 1973.

33. Mondorf, W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E., Merrill, J.P.: Immunologischer Nachweis von Membranproteinen des proximalen Tubulus als Parameter für die akute Abstoßungsreaktion nach allogener Nierentransplantation beim Menschen, Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 79: S. 690-692, 1973.

34. Mondorf, W., Simrock, A., Koser, B., Scherberich, J.E.: Nachweis enzymatisch aktiver Membranteile des proximalen Tubulus der menschlichen Niere im Harn bei Patienten mit Cholostase, Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 82 : S. 1466-1469, 1976.

35. Mondorf, W.: Enzymologie der Niere, Klin. Nephrologie, Bd.I, Hrsg. Losse, H., Renner, E., Thieme Verlag, Stuttgart 1982.

36. Peters, J.E., Rehfeld, N., Haschen, R.J.: Verhalten der Aminosäurearylamidase-Isoenzyme bei der Immundiffusion, Clin. Chim. Acta 24: S. 314-315, 1969.

37. Peters, J.E., Schneider, J., Haschen, R.J.: Bestimmung der L-Alanyl-Peptidhydrodase (Alanin-Aminopeptidase, Aminosäure-Arylamidase) im menschlichen Harn, Clin. Chim. Acta 36: S. 289-301, 1972.

38. Peters, J.E., Mampel, E., Schneider, J., Burchard, U., Fukala, E., Ahrens, I., Haschen, R.J.: Alaninaminopeptidase (L-Alanyl-Peptidhydrodase im Harn bei Nierenerkrankungen, Clin. Chim. Acta 37: S. 213, 1972.

39. Pfleiderer, G., Baier, M., Mondorf, W., Stefanescu, T., Scherberich, J., Müller, H.: Change in alkaline phosphatase isoenzyme pattern in urine as possible merker for renal disease, Kidney int. 17: S. 242-249, 1980.

40. Pockrandt-Hemstedt, H., Schmitz, J.E., Kinne-Saffran, E., Kinne, R.: Morphologische und biochemische Untersuchungen über die Oberflächenstruktur der Bürstensaummembran der Rattenniere, Pluegers Arch. 333: S. 297-313, 1972.

41. Raab, W.P.: Enzymes and isoenzymes in urine; in: Enzymes in urine and kidney, Hrsg. Aebi, H.; Mattenheimer, H., Schmidt, F.W., Berlin 1968.

42. Raab, W.P.: Die diagnostische Bedeutung der Bestimmung von Harnenzymaktivitäten, Clin. Chem. Clin. Biochem. 9: S. 143-154, 1971.

43. Raab, W.P.: Diagnostic value of urinary enzyme determinations, Clin. Chem. 18: S. 5-25, 1972.

44. Rehfeld, N.: Isoenzyme der Aminosäurearylamidase, Inaug. Diss., Math.-Nat. Fakultät, Martin Luther-Universität Halle 1967.

45. Rehfeld, N., Peters, J.E., Giesecke, H., Beier, L., Haschen, R.J.: Untersuchungen über Aminosäurearylamidasen, I. Verteilung und Isoenzyme der Aminosäure-arylamidase im menschlichen Organismus, Acta Biol. Med. Ger. 19: S. 809-818, 1967.

46. Rehfeld, N., Peters, J.E., Giesecke, H., Haschen, R.J.: Untersuchungen über Aminosäure-arylamidasen, II. Reinigung und Charakterisierung der Aminosäure-arylamidase-Isoenzyme aus Leber und Duodenalschleimhaut des Menschen, Acta Biol. Med. Ger. 19: S. 819-830, 1967.

47. Reimer, K.A., Jennings, R.B.: Alterations in renal cortex following ischemic injury. I. PAH uptake by slices of cortex after ischemic or autolysis, Lab. Invest. 25: S. 176-184, 1971.

48. Reimer, K.A., Jennings, R.B.: Alterations in renal cortex following ischemic injury, II. PAH uptake, 0_2 consumption and water content of slices of cortex after ischemia or autolysis, Lab. Invest. 25: S. 185-195, 1971.

50. Robinson, J., Mirkovitch, V., Gomba, S.: Alterations in the dog renal tubular epithelium during normothermic ischemia, Kidney int. 11: S. 86-92, 1977.

51. Schaffernicht, H.: Über die Bestimmung der Aktivität der Aminosäurearylamidase im Harn, Z. Med. Labortechn. 10: S. 353-362, 1969.

52. Scherberich, J.E., Falkenberg, F.W., Mondorf, A.W., Müller, H., Pfleiderer, G.: Biochemical and immunological studies on isolated brushborder membranes of human kidney cortex and their membrane surface proteins, Clinica Chim. Acta 55: S. 179-197, 1974.

53. Scherberich, J.E., Falkenberg, F., Mondorf, W., Pfleiderer, G., Schoeppe, W.: Isolierung von partikulären Nierenantigenen aus dem Urin durch biospezifische Immunadsorbentien. Verh. Dtsch. Ges. Inn.Med. 82: S. 1469-1473, 1976.

54. Scherberich, J.E., Gauhl, C., Mondorf, W.: Biochemical immunological and ultrastructural studies on brushborder membranes of human kidney, Curr. Probl. Clin. Biochem. 8: S. 85-95, 1978.

55. Scherberich, J.E., Mondorf, W.: Excretion of brushborder antigens as a quantitative indicator of tubular damage, Curr. Probl. Clin. Biochem. 9: S. 281-290, 1979.

56. Schmidt, U., Dubach, U.C. (eds.): Renal metabolism in relation to renal function, Curr. Probl. Clin. Biochem. 6, 1978.

57. Schubert, G.E., Staudhammer, R., Rolle, K., Kneissler, U.: Tubular dimensions and juxtaglomerular granulation index in rat kidneys after unilateral obstruction of the ureter, Urol. Res. 3: S. 115-122, 1975.

58. Stallknecht, M.: Die Alaninaminopeptidase (AAP), Inaug.Diss., Med. Fakultät, J.W.Goethe-Universität, Frankfurt 1982.

59. Venkatachalam, M., Bernard, D., Donohoe, J., Levinsky, N.: Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: Differences among the S_1, S_2 and S_3 segments, Kidney Int. 14: S. 31-49, 1978.

60. Wachsmuth, D., Woodhams, R.: Uniform distribution and concentration of aminopeptidase in proximal tubules of pig kidney, J. Histochem. Cytochem. 21: S. 685-692, 1973.

61. Wachsmuth, D.: Aspects of regulation in kidney at the enzymatic level: aldolase isoenzymes, aminopeptidase and alkaline phosphatase, Curr. Probl. Clin. Biochem. 6: S. 381-391, 1976.

62. Wachsmuth, D., Stoye, J.: A classification of tumor development based on an analysis of enzymes in tissue sections of hypernephroid carcinoma in man. Beitr. Pathol. 159: S. 229-248, 1976.

63. Weber, H.: Vereinfachte Micromethode zur Bestimmung der Leucin-aminopeptidase im Serum, Clin. Chim. Acta 10: S. 521-529, 1964.

7. Lebenslauf

Am 10. Februar 1953 wurde ich als Sohn der Eheleute Karl-Heinz und Lotte Rauh in Erlangen geboren. Von 1959 bis 1963 besuchte ich die Grundschule in Erlangen. Im Jahre 1963 wechselten wir den Wohnsitz nach Bayreuth, wo ich vom gleichen Jahr an das humanistische Gymnasium besuchte. 1972 legte ich an dieser Schule die Reifeprüfung ab.

Nach einem halben Jahr Krankenpflegedienst an der Missionsärztlichen Klinik in Würzburg leistete ich von 1973 bis 1974 meinen Grundwehrdienst. Anschließend studierte ich an der Universität Marburg Physik. Im Wintersemester 1975/76 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Phillips-Universität in Marburg. 1977 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, 1978 den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. Zum Wintersemester 1978/79 wechselte ich an die Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main. Hier bestand ich im August 1980 den zweiten Abschnitt und im April 1982 den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. Am 14. Mai 1982 erhielt ich meine Approbation als Arzt. Von Juli bis November 1982 arbeitete ich als Assistenzarzt in der urologischen Abteilung der Universitätsklinik Frankfurt am Main. Von Dezember 1982 bis Februar 1983 war ich als Assistenzarzt in der chirurgischen Abteilung des St.Marien-Krankenhauses in Frankfurt tätig. Seit 1. April 1983 arbeite ich in der gynäkologischen Abteilung des Hospitals zum Heiligen Geist in Frankfurt als Assistenzarzt.

Wolfgang Rauh

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

"Quantitative enzymatische Histophotometrie
mit einem computer-assistierten Bildanalysator
in alterierten Nieren nach Ureterobstruktion,
Ischämie und Ligatur der Nierenvene"

im Zentrum der Chirurgie, Abteilung Urologie, unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Weber ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation erwähnten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher kein Gesuch um Zulassung zur Promotion an einer in- oder ausländischen Fakultät eingereicht und diese Dissertationsarbeit sonst nirgends vorgelegt.

Frankfurt am Main, Juni 1983

Wolfgang Raul

Koczy-Druck, Oppenheimer Ldstr. 29, 6000 Ffm. 70, Tel. 0611/62 21 91